目次

1. まとめ....6
1.1 反復投与毒性試験....8
1.2 組織交差反応性....9
1.3 構成成分の毒性....9
1.4 遺伝毒性....10
1.5 光毒性....10
2. 単回投与毒性試験....11
3. 反復投与毒性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）....12
3.1 DS-8201a のラット 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 9 週間回復性試験（GLP 適用）....12
3.2 DS-8201a のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 6 週間回復性試験（GLP 適用）....13
3.3 DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）....14
3.4 DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 3 ヵ月間回復性試験（GLP 適用）....15
4. 遺伝毒性試験....17
4.1 MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用）....17
4.2 MAAA-1181a の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（GLP 適用）....17
4.3 静脈内投与による MAAA-1181a のラット骨髄小核試験（GLP 適用）....17
5. がん原性試験....19
6. 生殖発生毒性試験....20
7. 局所刺激性試験....21
8. その他の毒性試験....22
8.1 組織交差反応性試験....22
8.1.1 DS-8201a のヒト組織交差反応性試験（GLP 適用）....22
8.1.2 DS-8201a のサル組織交差反応性試験（GLP 適用）....22
8.2 MAAA-1181a の反復投与毒性試験....22
8.2.1 MAAA-1181a 一水和物のラット 4 週間間歇（1 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）....22
8.2.2 MAAA-1181a 一水和物のサル 4 週間間歇（1 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）....23
8.3 MAAL-9001 の反復投与毒性試験....24
8.3.1 MAAL-9001 のラット 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）....24

8.3.2 MAAL-9001 のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）.....24
8.4 光毒性.....25
8.4.1 MAAA-1181a のマウス線維芽細胞を用いた in vitro 光安全性試験（GLP 適用）..25
8.4.2 MAAA-1181a 一水和物の単回静脈内投与による有色ラットの光毒性試験（GLP 適用）.....25
9. 考察及び結論.....27
9.1 標的臓器及び組織.....27
9.2 遺伝毒性.....31
9.3 生殖発生毒性.....31
9.4 光毒性.....31
10. 結論.....32
11. 参考文献.....34

表一覧

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム.....8
表 2.6.6.10-1　DS-8201a を推奨臨床用量でヒトに投与した場合とラット及びサルの標的臓器毒性の NOAEL 又は毒性用量で投与した場合の全身曝露量（AUC）に基づく DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の曝露マージン.....33

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ALT	alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
AST	aspartate transaminase	アスパラギン酸トランスアミナーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC21d	area under the plasma concentration-time curve up to 21 days	投与後 21 日目までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CK	creatine kinase	クレアチンキナーゼ
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HER2	human epidermal growth factor receptor 2	ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大用量
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MOE	margin of exposure	曝露マージン
NA	not applicable	該当なし
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
QTc	QT interval corrected with Bazett’s formula	Bazett の式で補正した QT 間隔
S9	9000 *g* supernatant	9000 *g* 上清
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of the animals	10%の動物に重篤な毒性が発現する用量
T-DM1	trastuzumab emtansine	トラスツズマブ　エムタンシン
TK	toxicokinetic (s)	トキシコキネティクス
UVA	ultraviolet A	紫外線 A

用語一覧

用語	定義
DS-8201a	HER2 を標的とした抗体薬物複合体（1 抗体あたりの薬物抗体比: 約 8）、トラスツズマブ　デルクステカン（遺伝子組換え）
DS-8201a（Process 1）	MAAL-9001（Process 1）で製造した原薬
DS-8201a（Process 2）	MAAL-9001（Process 2）で製造した原薬
MAAA-1181a	DS-8201a から遊離した薬物: トポイソメラーゼ I 阻害剤であるエキサテカンの誘導体
MAAL-9001	DS-8201a の中間体: トラスツズマブとアミノ酸配列が同一のヒト化抗 HER2 IgG1κ モノクローナル抗体
MAAL-9001（Process 1）	MAb Process-1 で生産した MAAL-9001
MAAL-9001（Process 2）	MAb Process-2 で生産した MAAL-9001
MAb Process-1	MAAL-9001 産生 CHO[redacted] 細胞株を用いた MAAL-9001 の生産工程 1
MAb Process-2	MAAL-9001 産生 CHO[redacted] 細胞株を用いた MAAL-9001 の生産工程 2
総抗体 [a]	薬物結合型及び非結合型抗体をあわせた抗体

[a] 臨床の項では、総抗 HER2 抗体と記載

1. まとめ

DS-8201a（トラスツズマブ　デルクステカン［遺伝子組換え］）は、抗ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2（human epidermal growth factor receptor 2: HER2）抗体である MAAL-9001 とトポイソメラーゼ I 阻害剤である MAAA-1181a を切断可能なペプチド含有リンカーを介して共有結合させた HER2 を標的とした抗体薬物複合体（antibody-drug conjugate: ADC）である。MAAL-9001 は、トラスツズマブとアミノ酸配列が同一のヒト化抗 HER2 免疫グロブリン G1（immunoglobulin G1: IgG1）κ モノクローナル抗体である。MAAA-1181a は、トポイソメラーゼ I 阻害活性を有するエキサテカン誘導体である。

MAAL-9001 は、MAAL-9001 の DNA 配列を導入したチャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary: CHO）細胞で生産される。DS-8201a の開発では 2 種類の MAAL-9001 産生 CHO 細胞株を樹立した。DS-8201a の非臨床試験及び開発初期段階では、MAAL-9001 産生[redacted] CHO[redacted] 細胞株を用いた。開発の初期段階、後期段階、及び最終的な実生産では第 2 の MAAL-9001 産生[redacted] CHO[redacted]細胞株を使用している。それぞれの MAAL-9001 産生細胞株について MAAL-9001 の製造工程（MAb Process-1 及び MAb Process-2）を開発した（2.3.S.2.6.1［抗体］参照）。

非臨床試験に用いた MAAL-9001 及び DS-8201a について、MAb Process-1 で生産した MAAL-9001 を MAAL-9001（Process 1）、MAb Process-2 で生産した MAAL-9001 を MAAL-9001（Process 2）、MAAL-9001（Process 1）を用いて製造した DS-8201a を DS-8201a（Process 1）、MAAL-9001（Process 2）を用いて製造した DS-8201a を DS-8201a（Process 2）とする。

非臨床の項では、非臨床試験に用いた DS-8201a は特に記載のない限り DS-8201a（Process 1）を指し、MAAL-9001 は MAAL-9001（Process 1）を指す。

DS-8201a の毒性試験のプログラムの概略を表 2.6.6.1-1 に示す。

全ての毒性試験は、試験時点で有効な医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice: GLP）を遵守して実施し、経済協力開発機構の基準にも準拠して実施した。

DS-8201a は、ヒト HER2 と同様にカニクイザル HER2 の細胞外ドメインに結合する一方で、マウス、ラットの HER2 の細胞外ドメインとは結合しないことが、組換えタンパクを用いた酵素免疫測定法（enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA）により確認されている。DS-8201a の交差種としてカニクイザルを用いた間歇静脈内投与試験を実施し、さらに標的非依存的な作用の評価のため非交差種としてラットを用いた間歇静脈内投与試験を実施した。臨床での投与経路とレジメンに基づいて 3 週間に 1 回の間歇静脈内投与とした。6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）試験の高用量は投与可能な最大液量と被験物質の溶解濃度に基づいた投与可能最大量とした。DS-8201a の各構成成分の毒性を明らかにするために、MAAA-1181a 及び MAAL-9001 の間歇静脈内投与毒性試験をラット及びカニクイザルで実施した。また、MAAA-1181a についての遺伝毒性試験を実施するとともに、in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込みによる光安全性試験及びラットを用いた in vivo 単回投与光毒性試験を実

施した。

がん原性試験は医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: ICH）S9 に基づき、実施していない。

ラット及びカニクイザルの間歇静脈内投与試験では、DS-8201a の投与による生殖器への影響を組織学的に評価した。ラット及びサルの DS-8201a もしくは MAAA-1181a の毒性試験では、分裂の速い細胞（リンパ／造血器、消化管、及び精巣）への毒性が認められている。さらに、MAAA-1181a は in vitro 染色体異常試験及び in vivo 小核試験で遺伝毒性を示した。また、トラスツズマブは妊婦に投与された場合に、胎児毒性を示すことが知られている[1]。したがって、DS-8201a は胎児毒性を惹起する可能性があると考えられ、ICH S9 に基づき、生殖発生毒性試験は実施していない。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	被験物質	投与経路	動物種（系統）	添付資料番号	GLP
反復投与毒性試験					
6 週間	DS-8201a (Process 1 [redacted])	静脈内	ラット／SD	4.2.3.2-1	適用
6 週間	DS-8201a (Process 1 [redacted])	静脈内	カニクイザル	4.2.3.2-2	適用
6 週間	DS-8201a (Process 2 [redacted])	静脈内	カニクイザル	4.2.3.2-3	適用
3 ヵ月	DS-8201a (Process 2 [redacted])	静脈内	カニクイザル	4.2.3.2-4	適用
遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	4.2.3.3.1-1	適用
染色体異常試験	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	チャイニーズハムスター肺組織由来細胞	4.2.3.3.1-2	適用
骨髄小核試験（単回）	MAAA-1181a monohydrate[a]	静脈内	ラット／SD	4.2.3.3.2-1	適用
その他の毒性試験					
組織交差反応性試験	DS-8201a (Process 1 [redacted])	In vitro	ヒト組織	4.2.3.7.7-1	適用
組織交差反応性試験	DS-8201a (Process 1 [redacted])	In vitro	カニクイザル組織	4.2.3.7.7-2	適用
毒性試験（構成成分）、4 週間	MAAA-1181a monohydrate[a]	静脈内	ラット／SD	4.2.3.7.7-3	適用
毒性試験（構成成分）、4 週間	MAAA-1181a monohydrate[a]	静脈内	カニクイザル	4.2.3.7.7-4	適用
毒性試験（構成成分）、6 週間	MAAL-9001 (Process 1 [redacted])	静脈内	ラット／SD	4.2.3.7.7-5	適用
毒性試験（構成成分）、6 週間	MAAL-9001 (Process 1 [redacted])	静脈内	カニクイザル	4.2.3.7.7-6	適用
光毒性試験	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	Balb/c 3T3 マウス繊維芽細胞	4.2.3.7.7-7	適用
光毒性試験（単回）	MAAA-1181a monohydrate[a]	静脈内	ラット／Iar:Long-Evans	4.2.3.7.7-8	適用

[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.

1.1　反復投与毒性試験

急性毒性は反復投与毒性試験の中で評価できるため、単回投与毒性試験は実施していない。

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（3 週間に 1 回）では、高用量は投与可能な最大液量と被験物質の溶解濃度に基づいた投与可能最大量とし、投与量は 0、20、60、及び 197 mg/kg とした。197 mg/kg まで死亡及び瀕死例は認められなかった。DS-8201a 投与による主な毒性は、20 mg/kg 以上で消化管及び精巣毒性、60 mg/kg 以上でリンパ／造血器毒性、腎毒性、皮膚毒性、及び切歯毒性であった。これらの変化は、精巣及び切歯の変化を除

き、回復性を示した。いずれも瀕死あるいは死亡に至る重篤な変化ではないことから、ラットの 10%の動物に重篤な毒性が発現する用量（severely toxic dose in 10% of the animals: STD_{10}）は 197 mg/kg より大きいと判断された。

DS-8201a のカニクイザル 6 週間間歇投与毒性試験（3 週間に 1 回）では、高用量は投与可能な最大液量と被験物質の溶解濃度に基づいた投与可能最大量とし、投与量は、0、10、30、及び 78.8 mg/kg とした。78.8 mg/kg の雌 1 例が瀕死状態となった。瀕死例でみられた主な毒性は、消化管毒性、造血器毒性、皮膚毒性、及び腎毒性であった。体重及び摂餌量の減少、並びに骨髄毒性及び消化管毒性に起因した状態悪化により瀕死に至ったと考えられた。生存例の主な毒性は、10 mg/kg 以上で消化管毒性、30 mg/kg 以上で肺毒性、精巣毒性、及び皮膚毒性であった。また、78.8 mg/kg で造血器毒性、腎毒性、及び心電図異常（PR 間隔の短縮及び QT 間隔［QT interval corrected with Bazett's formula: QTc］の延長）が認められた。肺毒性及び皮膚の色素沈着を除き、これらの所見は 6 週間の休薬期間後に回復傾向を示した。サル間歇投与毒性試験では、78.8 mg/kg で瀕死、生存例で肺毒性（間質の炎症あるいは肺胞水腫等）が認められたことから、重篤な毒性が発現しない最大用量（highest non-severely toxic dose: HNSTD）は、30 mg/kg と判断された。

DS-8201a（Process 2）のカニクイザル 6 週間間歇投与毒性試験（3 週間に 1 回）では、主に消化管毒性、造血器毒性、及び皮膚毒性が認められたが、これらの所見は過去に実施された DS-8201a（Process 1）のカニクイザル 6 週間間歇投与毒性試験（3 週間に 1 回）で観察されたものと同様であった。DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（3 週間に 1 回）では、骨髄、腎臓、消化管、精巣、皮膚、及び肺に対する毒性がみられた。投与に起因する重篤な毒性を示唆する所見はみられなかったことから、HNSTD は 30 mg/kg と判断された。

1.2　組織交差反応性

ヒト正常組織パネル（38 組織）を用いて DS-8201a の交差反応性試験を評価した。胎盤細胞のみ、抗体が生体内で到達可能と考えられる細胞膜で陽性反応を示した。また、カニクイザルの正常組織（骨髄、脳、心臓、消化管、腎臓、肝臓、肺、皮膚、脾臓、及び精巣）を用いた DS-8201a の交差反応性試験では、細胞膜及び細胞質の染色は認められなかった。カニクイザルの主要組織では、ヒトと同様に細胞膜の染色は認められないことが示された。

1.3　構成成分の毒性

MAAA-1181a の 4 週間間歇静脈内投与毒性試験（1 週間に 1 回）では、ラットにおいて 3 mg/kg 以上でリンパ／造血器毒性、消化管毒性に加え、角膜毒性が確認されたが、30 mg/kg まで死亡は認められなかった。カニクイザルでも 1 mg/kg 以上でラットとほぼ同様の所見が認められた。また、カニクイザルでは 12 mg/kg で雌 1 例の死亡と雄 1 例の瀕死が認められた。この瀕死例では、これらの毒性以外に心臓（限局性の心筋の変性及び壊死）への作用が認められたが、雌の死亡例では認められなかった。死亡及び瀕死例ではともに持続

的な摂餌量の減少、骨髄毒性や消化管毒性に関連した状態悪化がみられたことから、これらが死亡又は瀕死の原因と考えられた。生存例では、死亡あるいは瀕死例と同様な病理学的所見が認められ、1 mg/kg 以上でリンパ／造血器（脾臓、胸腺、及び骨髄）の変化、12 mg/kg で小腸及び大腸、肝臓、並びに眼の角膜上皮の変化が認められた。消化管毒性及びリンパ／造血器毒性は、DS-8201a 及び MAAA-1181a の毒性試験で共通して発現した。

MAAL-9001 のラット及びカニクイザル 6 週間の間歇静脈内投与毒性試験（3 週間に 1 回）では、投薬に起因する毒性変化は認められなかった。

1.4　遺伝毒性

MAAA-1181a の in vitro 遺伝毒性試験では、細菌に対して遺伝子突然変異誘発性はみられなかったが、哺乳類培養細胞に対して染色体の構造異常を誘発した。ラット in vivo 骨髄小核試験では MAAA-1181a は小核を誘発すると判断された。

1.5　光毒性

MAAA-1181a の Balb/c 3T3 マウス繊維芽細胞を用いた in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み光安全性試験で、MAAA-1181a は光毒性陽性と判断された。しかし、有色ラットを用いた MAAA-1181a の in vivo 単回投与光毒性試験では、最高用量の 3 mg/kg まで光毒性は認められなかった。

2. 単回投与毒性試験

急性毒性については反復投与毒性試験で評価できるため、ICH M3（R2）ガイドラインに準拠して、DS-8201a の単回投与毒性試験は実施していない。なお、ラットの 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験では、初回投与の 8 日目以降に、皮膚の外傷又は痂皮が 20 mg/kg の雌及び 60 mg/kg 以上の雌雄で、疎毛あるいは脱毛が 197 mg/kg の雌雄で認められた。また、197 mg/kg の雌雄で初回投与の翌日に摂餌量の低下がみられ、投与 3 日目に体重減少が観察された。試験期間を通じて死亡又は瀕死例は認められず、ラットの単回投与における概略の致死量は 197 mg/kg より大きいと判断した。カニクイザルの 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験では、78.8 mg/kg の初回投与 8 日目から下痢がみられた。また、投与 2 日目から雌雄各 1 例で摂餌量の低下がみられ、その後、体重減少が観察された。78.8 mg/kg の雌 1 例では、2 回投与後（投与 26 日目）に体重及び摂餌量の減少、並びに骨髄毒性及び消化管毒性に起因した状態悪化により瀕死に至ったが、初回投与後には死亡又は瀕死に至る重篤な変化はみられなかった。以上の結果から、カニクイザルの単回投与における概略の致死量は 78.8 mg/kg より大きいと判断した。

3.　反復投与毒性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

3.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 9 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.2-1

Crl:CD(SD) ラット（雌雄各 10 例／群）に、DS-8201a を 0（溶媒対照: 10 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 5.8］、10 w/v%トレハロース、0.02 w/v%ポリソルベート 20）、20、60、又は 197 mg/kg の投与量で、3 週間に 1 回 6 週間間歇静脈内投与（投与 1、22、及び 43 日目の計 3 回投与）した。また、0、60、及び 197 mg/kg の投与量では、1 群雌雄各 5 例を追加し、9 週間の休薬による毒性変化の可逆性を評価した。さらに、サテライト群の動物（雌雄各 4 例／群）を用いて DS-8201a、総抗体（薬物結合型及び非結合型抗体をあわせた抗体）、及び MAAA-1181a のトキシコキネティクス（toxicokinetics: TK）解析を実施した（2.6.4.3.2.1.1.1）。

いずれの投与量でも死亡及び瀕死例は認められなかった。また、投薬に起因する眼科学的異常は認められなかった。摂餌量の減少を伴う体重減少が 197 mg/kg の雌雄でみられた。尿検査では、蛋白の増加が 60 mg/kg の雄及び 197 mg/kg の雌雄で、尿中の精子減少が 197 mg/kg の雄（無精子: 15 例中 14 例）でみられた。

血液学的検査では網赤血球比率の減少が 20 mg/kg 以上の雄及び 60 mg/kg 以上の雌でみられ、白血球数、リンパ球数、好塩基球数、及び好中球数の減少が 60 mg/kg 以上の雌雄で、好酸球数の減少及び血小板数の増加が 60 mg/kg 以上の雄で認められた。また、大型非染色細胞数の減少が 60 mg/kg の雌及び 197 mg/kg の雌雄で、単球数の減少が 197 mg/kg の雌雄でみられた。血液化学的検査では、無機リンの増加が 60 mg/kg の雄で、クレアチニン及びカリウムの増加、並びにナトリウム及びクロールの減少が 197 mg/kg の雄で、尿素窒素及び無機リンの増加が 197 mg/kg 群の雌雄でみられた。

リンパ／造血器では、胸腺の小型化が 197 mg/kg の雌雄でみられ、雌では重量の減少を伴っていた。病理組織学的検査では、骨髄の赤芽球の減少が 60 mg/kg 以上、骨髄球の減少が 197 mg/kg で、胸腺のリンパ球の単細胞壊死が 60 mg/kg 以上、萎縮が 197 mg/kg で、顎下リンパ節及び回腸パイエル板の濾胞の萎縮が 60 mg/kg 以上で、いずれも雌雄に認められた。消化器では、小腸及び大腸で陰窩上皮細胞の単細胞壊死が 20 mg/kg 以上の雌雄でみられた。十二指腸では、限局性の絨毛萎縮が 60 mg/kg の雌及び 197 mg/kg の雌雄で、粘膜固有層の炎症細胞浸潤が 197 mg/kg 群の雌雄で、粘膜の糜爛が 197 mg/kg 群の雄で観察された。泌尿器系では、腎臓の尿細管の好塩基性化及び硝子円柱が 60 mg/kg の雄及び 197 mg/kg の雌雄でみられた。生殖器では、重量の減少を伴う精巣及び精巣上体の小型化が 197 mg/kg で、精巣の精子細胞の滞留が 20 及び 60 mg/kg で、精細管の変性あるいは萎縮が 197 mg/kg でみられ、精巣上体管内の細胞残渣及び精子減少が 197 mg/kg で観察された。外皮系では、一般状態観察において外傷あるいは痂皮が 20 mg/kg の雌及び 60 mg/kg 以上の雌雄で、疎毛あるいは脱毛が 197 mg/kg の雌雄で認められた。病理組織学的検査では、60 mg/kg 以上で関連する毒性学的変化がみられた。皮膚の毛包における単細胞壊死、潰瘍、痂皮、表皮の肥厚

あるいは真皮における線維化及び炎症細胞浸潤が雌雄で、乳腺の萎縮が雄で認められた。切歯への影響として、切歯の白色化が 60 mg/kg の雌雄で、切歯の欠損が 20 mg/kg の雄でみられた。剖検では、60 mg/kg で切歯の白色化が認められた。病理組織学的検査では、切歯歯根部における単細胞壊死及び限局性あるいは多巣性のエナメル器変性が 60 mg/kg 以上の雌雄でみられた。異常象牙質形成、エナメル器下における出血、限局性のセメント質欠落、及び象牙質の低形成が 197 mg/kg 群の雌雄で、歯肉炎が 197 mg/kg の雄で観察された。

休薬期間終了時には、網赤血球比率及び血小板数の増加が 197 mg/kg の雄で、白血球数及び単球数の減少が 197 mg/kg の雌でみられた。また、休薬期間中あるいは休薬期間終了時には、197 mg/kg の雄あるいは雌でみられた病理組織学的変化（限局性あるいは多巣性のエナメル器変性、異常象牙質形成、エナメル器下における出血、限局性のセメント質欠落、及び歯根破折）を伴う切歯の異常が 60 mg/kg で観察された。尿中の無精子、重量の減少を伴う精巣及び精巣上体の小型化、精巣の病理組織学的変化（精細管の変性あるいは萎縮）、精巣上体の病理組織学的変化（精巣上体管内の細胞残渣及び精子減少）が 197 mg/kg で観察された。投与期間終了時にみられた病理組織学的変化は、精巣及び切歯の変化を除き回復性が認められた。

本試験では、消化管、リンパ／造血器、腎臓、精巣、皮膚、及び切歯に対する毒性がみられた。いずれも瀕死あるいは死亡に至る重篤な変化でないことから、ラットの STD_{10} は 197 mg/kg より大きいと判断された。

3.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 6 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.2-2

カニクイザル（雌雄各 3 例／群）に、DS-8201a を 0（溶媒対照: 10 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 5.8］、10 w/v%トレハロース、0.02 w/v%ポリソルベート 20）、10、30、又は 78.8 mg/kg の投与量で、3 週間に 1 回 6 週間間歇投与（投与 1、22、及び 43 日目の計 3 回投与）した。また、DS-8201a の 30 及び 78.8 mg/kg の投与量では、1 群雌雄各 2 例を追加し、6 週間の休薬による毒性変化の可逆性を評価した。さらに、DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.1.2.1）。

いずれの投与量でも投薬に起因する眼科学的異常は認められなかった。

78.8 mg/kg では、投与 26 日目に雌 1 例が瀕死のため安楽死処置された。当該動物では、安楽死処置前に下痢、皮膚色の異常（黒褐色、前腕及び膝周辺）、自発運動の減少、及び体温低下がみられた。また、体重及び摂餌量の減少がみられた。臨床検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値の減少、並びにアスパラギン酸トランスアミナーゼ（aspartate transaminase: AST）、アラニントランスアミナーゼ（alanine transaminase: ALT）、クレアチンキナーゼ（creatine kinase: CK）、及び尿素窒素の増加がみられた。病理組織学的検査では、骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、十二指腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死、腎臓の尿細管の好塩基性化、尿細管上皮の増殖、近位尿細管の核の大小不同、硝子及び細胞円柱、

間質の硝子状物質及び細胞浸潤、皮膚及び投与部位において毛包の単細胞壊死、並びに表皮の肥厚及び色素沈着が認められた。瀕死の原因は、体重及び摂餌量の減少、並びに骨髄毒性及び消化管毒性に起因した状態悪化と考えられた。

生存例では、瀕死例と同様の以下の変化がみられた。すなわち 10 mg/kg 以上で AST 及び ALT の増加、並びに小腸及び大腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死、30 mg/kg 以上で皮膚及び投与部位の毛包の単細胞壊死、78.8 mg/kg で下痢、皮膚色の異常（黒褐色、肩、前腕、大腿、及び膝周辺）及び皮膚の黒色巣、体重及び摂餌量の減少、並びに赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、及び網赤血球比率）の減少がみられた。病理組織学的検査では 78.8 mg/kg で胸骨骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、皮膚の表皮の肥厚及び色素沈着、並びに腎臓の尿細管の好塩基性化、尿細管上皮の増殖、近位尿細管の核の大小不同、硝子及び細胞円柱、及び間質における硝子物質及び細胞浸潤がみられた。さらに、30 mg/kg 以上でステージ V-VI 精細管における円形精子細胞の減少、78.8 mg/kg で、心電図異常（PR 間隔の短縮及び Bazett の式で補正した QTc の延長、雄 1 例）、尿潜血反応陽性、及びに肺に白色巣、限局性の間質の炎症、泡沫肺胞マクロファージの集簇、及び肺胞水腫が認められた。

休薬期間終了時には、30 mg/kg 以上で、肺に限局性の間質の炎症、泡沫肺胞マクロファージの集簇、肺胞マクロファージにおけるコレステリン裂隙、78.8 mg/kg で肺胞水腫、近位尿細管の核の大小不同、及び皮膚の表皮／真皮における色素沈着が認められた。骨髄、消化管、腎臓、及び精巣の変化は回復あるいは回復傾向がみられたが、皮膚の色素沈着及び肺の所見には、休薬期間終了時までに明確な回復性は認められなかった。

以上の結果より、本試験では、骨髄、腎臓、小腸及び大腸、精巣、皮膚、及び肺に対する毒性がみられた。78.8 mg/kg の雌 1 例が重度の状態悪化により瀕死状態となったこと及び肺毒性（間質の炎症あるいは肺胞水腫等）が生存例の雌雄に認められたことから、HNSTD は雌雄ともに 30 mg/kg と判断された。

3.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.2-3

雌雄のカニクイザル（雌雄各 3 例／群）に、DS-8201a を 0（溶媒対照: 25 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 5.5］、9 w/v%スクロース）、10、又は 30 mg/kg の投与量で、3 週間に 1 回 6 週間間歇投与（投与 1、22、及び 43 日目の計 3 回投与）した。また、DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK 解析を実施した（2.6.7.7.3 参照）。

いずれの投与量でも死亡及び瀕死例は認められなかった。また、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、剖検、及び器官重量に投薬に起因する毒性変化はみられなかった。

血液学的検査では、30 mg/kg で赤血球数、ヘマトクリット値、及びヘモグロビン濃度の減少が観察された。

血液化学的検査では、AST、乳酸脱水素酵素（lactate dehydrogenase: LDH）、及び CK の増加が 10 mg/kg 以上の雄あるいは雌でみられた。

病理組織学的検査では、10 mg/kg 以上で小腸及び大腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死がみられ、30 mg/kg で皮膚及び投与部位の毛包の単細胞壊死、並びに胸骨骨髄の赤芽球の減少が認められた。

以上の結果より、本試験では、骨髄、消化管、皮膚に対する毒性がみられた。30 mg/kg まで重篤な毒性はみられなかったことから、HNSTD は雌雄ともに 30 mg/kg と判断された。

3.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 3 ヵ月間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.2-4

カニクイザル（雌雄各 4 例／群）に、DS-8201a を 0（溶媒対照: 25 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 5.5］、9%スクロース）、3、10、又は 30 mg/kg の投与量で、3 週間に 1 回 3 ヵ月間静脈内投与（投与 1、22、43、64、及び 85 日目の計 5 回投与）した。さらに、30 mg/kg の投与量では、1 群雌雄各 2 例を追加し、3 ヵ月間の休薬による毒性変化の可逆性を評価した。また、DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK 解析（2.6.4.3.2.1.2.2）を実施した。

いずれの投与量でも死亡及び瀕死例は認められなかった。また、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、心機能測定、胸部 CT 検査、尿検査、心筋トロポニン I 測定、及び器官重量に投薬に起因する毒性変化はみられなかった。

一般状態で、30 mg/kg で 4 回目投与（投与 78 日目）以降に皮膚色の異常（黒褐色）がみられた。

血液学的検査では、30 mg/kg で網赤血球比率の減少がみられた。

血液化学的検査では、30 mg/kg で AST、LDH、及び CK の増加がみられた。

病理組織学的検査では、3 mg/kg 以上で小腸及び大腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死、10 mg/kg 以上で皮膚の毛包の単細胞壊死、30 mg/kg で皮膚の黒色巣、肺の白色巣、胸骨骨髄の赤芽球減少並びにマクロファージ中の褐色色素沈着、肺の泡沫肺胞マクロファージの集簇及び間質あるいは肺胞の限局性の炎症、腎臓の近位尿細管の核の大小不同、皮膚の表皮の色素沈着、投与部位の毛包の単細胞壊死、胸骨骨髄の骨髄球の減少、肝臓のクッパー細胞／肝細胞／毛細胆管の褐色色素沈着（肝臓の色素はホール法で陰性）、脾臓のマクロファージの褐色色素沈着、及びステージ V-VI 精細管における円形精子細胞の減少がみられた。

休薬期間終了時には、30 mg/kg で腎臓の近位尿細管の核の大小不同、皮膚の表皮の色素沈着、及びごく軽度の限定的な肺の変化（泡沫肺胞マクロファージの集簇）がみられた。投与期間終了時にみられた変化は、皮膚と腎臓の所見を除き、回復あるいは回復傾向がみられた。

以上の結果より、本試験では、骨髄、腎臓、消化管、精巣、皮膚、及び肺に対する毒性がみられた。3 ヵ月間の投与期間中にみられた変化は、皮膚と腎臓の所見を除き、3 ヵ月間の休薬期間終了時までに回復あるいは回復傾向がみられた。30 mg/kg まで重篤な毒性はみら

れなかったことから、HNSTD は雌雄ともに 30 mg/kg であると判断された。

4. 遺伝毒性試験

4.1 MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.3.1-1

MAAA-1181a について細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した。試験にはネズミチフス菌の 4 菌株（TA100、TA1535、TA98、及び TA1537）と大腸菌の 1 菌株（WP2*uvrA*）を使用した。MAAA-1181a 一水和物はジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide: DMSO）に溶解して用いた。本試験の用量は、用量設定試験の結果を参考に、代謝活性化系（ラット肝 9000*g* 上清［9000 g supernatant: S9］mix）の存在下あるいは非存在下において 313～5000 µg/plate（MAAA-1181a 換算）の範囲内でそれぞれの菌株に対して合計 5 用量を設定した。また、陰性対照に DMSO、陽性対照に 4-ニトロキノロン 1-オキシド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン塩酸塩一水和物、及び 2-アミノアントラセンを使用した。

本試験では、S9 mix の有無にかかわらず、全菌株において、MAAA-1181a のいずれの投与量でも復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。以上の結果より、MAAA-1181a に遺伝子突然変異誘発性はないと判断された。

4.2 MAAA-1181a の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.3.1-2

MAAA-1181a について哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験を実施した。試験にはチャイニーズハムスター肺由来細胞を用いた。MAAA-1181a 一水和物は DMSO に溶解して用いた。用量設定試験の結果を参考に、本試験では代謝活性化系（S9 mix）の存在下あるいは非存在下において MAAA-1181a を 0.0125～3 µg/mL 含有する培地で細胞を処理した。また、陰性対照に DMSO を、陽性対照にマイトマイシン C 及びシクロホスファミド一水和物を用いた。短時間処理法では、6 時間の検体処理後、培地を交換しさらに 18 時間培養した。連続処理法では 24 時間培養した。細胞増殖率の結果に基づき、短時間処理法の S9 mix の非存在下では 0.05、0.1、0.2、及び 0.4 µg/mL で、S9 mix の存在下では 0.05、0.1、0.2、0.4、及び 1 µg/mL で、また連続処理法では 0.0125、0.025、0.05、0.1、及び 0.2 µg/mL で処理した細胞について染色体異常を評価した。

本試験では、MAAA-1181a による染色体の数的異常を示す細胞の増加は観察されなかったが、いずれの試験条件においても用量依存的に染色体の構造異常を示す細胞の増加が観察された。以上の結果より、MAAA-1181a は染色体の構造異常を誘発すると判断された。

4.3 静脈内投与による MAAA-1181a のラット骨髄小核試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.3.2-1

雄 Crl:CD(SD)ラット（5 例／群）を用いて、静脈内投与による MAAA-1181a の小核試験を実施した。MAAA-1181a 一水和物は生理食塩液に溶解し、用量設定試験の結果に基づき、0、0.025、0.05、0.1、及び 0.2 mg/kg（MAAA-1181a 換算）の投与量で単回静脈内投与した。投与 24 時間後に骨髄細胞を採取し、小核保有幼若赤血球数及び幼若赤血球の出現頻

度を評価した。陰性対照には生理食塩液を用い、陽性対照には保存された標本を用いた。

いずれの投与量でも一般状態の異常はみられず、体重にも陰性対照群と比べ有意差は認められなかった。小核保有幼若赤血球数は 0.05 mg/kg 以上で有意に増加した。また、いずれの投与量でも幼若赤血球の出現頻度に有意差は認められなかった。以上の結果より、MAAA-1181a は小核を誘発すると判断された。

5. がん原性試験

ICH S9 に基づき、がん原性試験は実施していない。

6. 生殖発生毒性試験

ICH S9 に基づき、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、並びに胚・胎児発生への影響に関する試験は実施していない。

DS-8201a の静脈内投与による生殖器への影響は、ラット及びカニクイザル間歇投与毒性試験で評価した。ラット 6 週間間歇投与毒性試験では、197 mg/kg で器官重量の減少を伴う精巣及び精巣上体の小型化が認められた。病理組織学的検査では、精巣の精子細胞の滞留が 20 及び 60 mg/kg で、精細管の変性あるいは萎縮が 197 mg/kg でみられた。また、二次的な精巣上体管内の細胞残渣及び精子減少が 197 mg/kg で観察された。カニクイザル 6 週間及び 3 ヵ月間間歇投与毒性試験では、30 mg/kg 以上でステージ V-VI 精細管における円形精子細胞の減少が認められた。

ラット及びサルの DS-8201a もしくは MAAA-1181a の毒性試験では、分裂の速い細胞（リンパ／造血器、消化管、及び精巣）への毒性が認められている。さらに、MAAA-1181a は、哺乳類細胞を用いた in vitro 染色体異常試験及びラット in vivo 骨髄小核試験で遺伝毒性を示した。ICH S9 によれば、遺伝毒性を有し、かつ分裂の速い細胞を標的とする薬物については胚及び胎児発生に関する毒性試験は必須でないため、胚胎児発生毒性試験は実施していない。トラスツズマブの製造販売後有害事象報告では、妊娠中の投与によって羊水過少が生じ、致死的な肺低形成、骨格異常、及び新生児死亡が発現したことが示されている[1]。したがって、MAAA-1181a 及びトラスツズマブの特性から、妊婦に投与した場合、DS-8201a は胎児毒性を惹起する可能性があると考えられる。

7. 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施していない。ラット及びカニクイザルの間歇静脈内投与毒性試験（3.1、3.2、3.3、3.4 参照）で、肉眼的観察と病理組織学的検査により DS-8201a の注射部位での局所刺激性を評価した。その結果、いずれの投与量でも DS-8201a に起因する刺激性変化は認められなかった。

8.　その他の毒性試験

8.1　組織交差反応性試験

8.1.1　DS-8201a のヒト組織交差反応性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-1

ヒト正常組織パネル（38 組織）を用いて DS-8201a の交差反応性を評価した。3 例以上のヒト正常組織の凍結切片に DS-8201a 又はヒト IgG1κ（アイソタイプ対照物質）を 1 及び 10 μg/mL の濃度で反応させ、ビオチン化抗ヒト IgG 抗体を用いる免疫組織学的方法により評価した。陽性対照組織として NCI-N87（ヒト胃癌）由来細胞の異種移植片、陰性対照組織として MDA-MB-468（ヒト乳癌）由来細胞の異種移植片をそれぞれ用いた。

1 μg/mL 以上で、胎盤の合胞体性栄養膜細胞及び脱落膜細胞の細胞質あるいは細胞膜に特異的染色が認められた。さらに、乳腺、子宮頸管、結腸、卵管、腎臓、眼の水晶体線維、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、胃、胸腺、甲状腺、扁桃腺、尿管、膀胱、及び子宮内膜で、上皮細胞の細胞質に特異的染色が認められた。しかし、生体内では抗体は細胞質に直接到達し難いと考えられることから、細胞質の染色性について生物学的意義は低いと考えられた。

8.1.2　DS-8201a のサル組織交差反応性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-2

カニクイザルの正常組織（骨髄、脳、心臓、消化管、腎臓、肝臓、肺、皮膚、脾臓、及び精巣）に対する DS-8201a の交差反応性を評価した。カニクイザル（3 例）の正常組織の凍結切片に DS-8201a 又はヒト IgG1κ（アイソタイプ対照抗体）を 1 及び 10 μg/mL の濃度で反応させ、ビオチン化抗ヒト IgG 抗体を用いる免疫組織学的方法により評価した。陽性対照組織として NCI-N87（ヒト胃癌）由来細胞の異種移植片、陰性対照組織として MDA-MB-468（ヒト乳癌）由来細胞の異種移植片をそれぞれ用いた。

DS-8201a のカニクイザルの主要組織に対する交差反応性を評価したが、ヒトと同様に検討した組織で細胞膜の特異的染色は認められなかった。

8.2　MAAA-1181a の反復投与毒性試験

8.2.1　MAAA-1181a 一水和物のラット 4 週間間歇（1 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-3

Crl:CD(SD) ラット（雌雄各 10 例／群）に、MAAA-1181a 一水和物を 0（溶媒対照: 生理食塩液）、3、10、又は 30 mg/kg（MAAA-1181a 換算）の投与量で、1 週間に 1 回 4 週間間歇静脈内投与（投与 1、8、15、22、及び 29 日目の計 5 回投与）した。また、0 及び 30 mg/kg の投与量では、1 群雌雄各 5 例を追加し、4 週間の休薬による毒性変化の可逆性を評価した。さらに、サテライト群（雌雄各 4 例／群）を用いて、MAAA-1181a の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.2.1.1 参照）。

投与期間及び休薬期間を通じて、投与に起因した死亡及び瀕死例はみられず、いずれの投与量でも、一般状態、眼科学的検査、尿検査、及び剖検で投薬に起因した毒性変化はみられなかった。

3 mg/kg 以上の雌雄では、一過性の体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられ、赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、及び網赤血球比率）の減少、白血球系パラメータ（白血球数、リンパ球数、好塩基球数、好中球数、好酸球数、及び単球数）の減少、並びに血清グルコースの高値が認められた。また、病理組織学的検査では、骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、重量の減少を伴う胸腺のリンパ球の単細胞壊死、回腸パイエル板あるいは顎下リンパ節の濾胞の萎縮が認められた。さらに、小腸及び大腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死、角膜上皮の単細胞壊死、並びに十二指腸の絨毛萎縮がみられた。

30 mg/kg では、雌雄で胸腺の萎縮、雄で盲腸に陰窩の拡張を伴う陰窩上皮細胞の再生が認められた。

4 週間の休薬期間終了時までに、投与期間中に認められた変化は回復した。

以上の結果より、本試験では、消化管、リンパ／造血器、角膜に対する毒性がみられた。いずれも動物の一般状態の悪化、瀕死あるいは死亡に至る重篤な変化ではないことから、ラットの STD_{10} は、30 mg/kg より大きいと判断された。

8.2.2　MAAA-1181a 一水和物のサル 4 週間間歇（1 週間に 1 回）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-4

雌雄のカニクイザル（雌雄各 3 例／群）に、MAAA-1181a 一水和物を 0（溶媒対照: 生理食塩液）、1、3、又は 12 mg/kg（MAAA-1181a 換算）の投与量で、1 週間に 1 回 4 週間間歇静脈内投与（投与 1、8、15、22、及び 29 日目の計 5 回投与）した。また、12 mg/kg の投与量では雌雄各 2 例を追加し、4 週間の休薬による毒性変化の可逆性を評価した。また、MAAA-1181a の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.2.2.1 参照）。

12 mg/kg では、雄 1 例が投与 12 日目に瀕死のため安楽死処置され、雌 1 例が投与 23 日目に死亡した。一般状態では、これらの動物で嘔吐、下痢、横臥、体温低下、口腔粘膜の蒼白化あるいは接触に対する反応性低下がみられた。さらに、体重の減少、摂餌量の減少あるいは摂餌廃絶がみられた。血液学的検査ではヘマトクリット値及びリンパ球数の減少が、血液化学的検査では AST 及び ALT の増加とナトリウム及びクロールの低下がみられた。

病理組織学的検査では、心臓の心筋の変性及び壊死（瀕死例のみ）、骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、脾臓の濾胞及び動脈周囲リンパ鞘の萎縮、腸間膜リンパ節及び回腸パイエル板の濾胞の萎縮、肝臓における肝細胞の単細胞壊死、限局性壊死、細胞分裂の増加、毛細胆管の胆汁栓と拡張、及びクッパー細胞の褐色色素沈着、並びに小腸及び大腸における陰窩上皮細胞の再生及び単細胞壊死、あるいは陰窩の拡張が認められた。死亡又は瀕死の原因は、体重あるいは摂餌量の減少に起因した動物の状態悪化並びに骨髄毒性及び消化管毒性に関連すると考えられた。

生存例では、死亡あるいは瀕死例と同様の変化がみられ、1 mg/kg 以上で、網赤血球比率の減少、脾臓、腸間膜リンパ節及び回腸パイエル板の濾胞の萎縮、並びに胸腺におけるリンパ球の単細胞壊死がみられた。3 mg/kg 以上で嘔吐、体重減少、及び AST の増加が認められた。12 mg/kg で異常便、ALT の増加、肝細胞の単細胞壊死、及び小腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死が認められた。さらに、赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値）及びリンパ球数の減少、血小板数の増加、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮又は延長、無機リン及びカリウムの増加、並びに角膜上皮細胞の単細胞壊死が認められた。

尿検査ではいずれの投与量でも投薬に起因する変化はみられなかった。

4 週間の回復期間終了時までに、投与期間中に認められた変化は回復した。

以上、本試験では、心臓、骨髄、リンパ／造血器、肝臓、消化管、角膜に対する毒性がみられた。12 mg/kg で死亡及び瀕死例が認められたことから、HNSTD は雌雄ともに 3 mg/kg と判断された。

8.3　MAAL-9001 の反復投与毒性試験

8.3.1　MAAL-9001 のラット 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-5

Crl:CD(SD)ラット（雌雄各 10 例／群）に、MAAL-9001 を 0（溶媒対照: 4.2 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 6.0］、10 w/v%トレハロース、0.0085 w/v%ポリソルベート 20）又は 197 mg/kg の投与量で 3 週間に 1 回、6 週間間歇静脈内投与（投与 1、22、及び 43 日目の計 3 回投与）した。また、サテライト群（雌雄各 4 例／群）を用いて、MAAL-9001 の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.3.1.1 参照）。

投与期間を通じて、死亡及び瀕死例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査で投薬に起因した毒性変化はみられなかった。したがって、無毒性量（no observed adverse effect level: NOAEL）は 197 mg/kg と判断された。

8.3.2　MAAL-9001 のサル 6 週間間歇（3 週間に 1 回）静脈内投与毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-6

カニクイザル（雌雄各 3 例／群）に、MAAL-9001 を 0（溶媒対照: 4.2 mmol/L ヒスチジン緩衝液［pH 6.0］、10 w/v%トレハロース、0.0085 w/v%ポリソルベート 20）又は 78.8 mg/kg の投与量で、3 週間に 1 回 6 週間間歇静脈内投与（投与 1、22、及び 43 日目の計 3 回投与）した。また、MAAL-9001 の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.3.1.1 参照）。

投与期間を通じて、死亡及び瀕死例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検、器官重量、及び病理組織

学的検査で投薬に起因した毒性変化はみられなかった。したがって、NOAEL は 78.8 mg/kg と判断された。

8.4　光毒性

8.4.1　MAAA-1181a のマウス線維芽細胞を用いた in vitro 光安全性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-7

Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて、in vitro 光安全性試験を実施した。MAAA-1181a の濃度は、用量設定試験の結果をもとに 25 µg/mL を最高濃度とし、培地中 0.195～25 µg/mL の 8 段階の濃度で設定した。光毒性を評価するため、太陽類似光を用いて、細胞を合計 5 J/cm^2 の紫外線 A（ultraviolet A: UVA）照射に曝露した（1.70 mW/cm^2、50 分）。なお、塩酸クロルプロマジンを陽性対照として用いた。

MAAA-1181a で処理した細胞において、照射条件下での 50%阻害濃度（half maximal inhibitory concentration : IC_{50}）値は 2.356 µg/mL であったが、非照射条件下では細胞生存率の IC_{50} 値が得られなかったため、光毒性係数は算出できなかった。平均光作用（mean photo effect: MPE）は 0.432 であり、陽性基準である 0.15 を超えたことから、MAAA-1181a は光毒性ありと判定された。

本試験条件下で、MAAA-1181a は光毒性を有すると判断された。

8.4.2　MAAA-1181a 一水和物の単回静脈内投与による有色ラットの光毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号：4.2.3.7.7-8

雄 Iar:Long-Evans 有色ラット（5 例／群）を用いて、in vivo 光毒性試験を実施し、MAAA-1181a の光毒性を評価した。本試験の高用量は、推定臨床用量での曝露量と比較して十分なマージンが確保される用量として 3 mg/kg に設定した。MAAA-1181a 一水和物は 0、1 及び 3 mg/kg の用量（MAAA-1181a 換算）で静脈内投与し、投与 0.5 時間後に UVA 照射（10 J/cm^2）に曝露した。陽性対照として、8-メトキシソラレンを 20 mg/kg の投与量で強制経口投与した。陰性対照として、被験物質と同様の方法で溶媒の生理食塩液を投与した。また、追加の 2 群（4 例／群）を用いて、投与 0.5 時間後（UVA 照射開始時）の血漿中 MAAA-1181a 濃度を測定した。一般状態を観察し、体重測定、皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察を実施した。

陰性対照では、いずれの検査でも光毒性は認められなかった。3 日間の観察期間中、MAAA-1181a に関連する一般状態の異常及び体重変化はみられなかった。皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察では、MAAA-1181a 投与及び UVA 照射に関連する異常はみられなかった。血漿中濃度の測定により、ラットが UVA 照射時に十分な MAAA-1181a に曝露されていたことが示された。最高用量（3 mg/kg）では血漿中 MAAA-1181a 濃度は 90.5 ng/mL であり、推奨臨床用量（5.4 mg/kg, DS-8201-A-U201）での最

高血漿中濃度（Cmax、7.2 ng/mL）に比べ十分な安全域（約 13 倍）を示した。陽性対照では、一般状態、皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察で、光毒性の明らかな徴候が認められた。

本試験条件下で、MAAA-1181a は有色ラットに光毒性を示さなかった。

9.　考察及び結論

9.1　標的臓器及び組織

DS-8201a は、臨床の投与レジメンと同様の反復投与により、ラットで 197 mg/kg まで、サルで 30 mg/kg まで忍容性を示した。ラットにおける毒性標的臓器は、消化管、リンパ／造血器（胸腺、リンパ節、及び骨髄）、腎臓、皮膚、精巣、及び切歯であった。サルにおける毒性標的臓器は、消化管、骨髄、肺、腎臓、皮膚、及び精巣であった。

DS-8201a 投与による変化は、サルの肺及びラットの切歯でみられた所見を除き、両動物種でみられた。DS-8201a を投与したラット（非交差種）とカニクイザル（交差種）で標的臓器に対する毒性が類似していたことから、DS-8201a の毒性は基本的に抗原非依存性であることが示唆される。これらの標的臓器に対する毒性には、用量依存性が認められた。投与期間を延長した場合も、毒性の増悪はみられなかった。

MAAA-1181a 一水和物をラット及びサルに静脈内投与した場合、MAAA-1181a の毒性標的臓器／組織は、両動物種で消化管、リンパ／造血器、及び角膜であった。心臓の病理組織学的変化が、致死用量でサル 1 例に認められた。

以下の毒性は、DS-8201a を投与した毒性試験でラット及びサルでみられたほか、MAAA-1181a の 4 週間間歇投与毒性試験においてもラット及びサルで認められた。

消化管毒性

DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験では、78.8 mg/kg で下痢がみられ、消化管毒性に関連する症状と考えられた。DS-8201a を投与したラット及びサルでは、低用量から小腸及び大腸の陰窩上皮細胞にごく軽微な単細胞壊死がみられた（ラットでは 20 mg/kg 以上、サルでは 3 mg/kg 以上）。これらの変化は、ラット及びサルのいずれにおいても休薬により回復した。DS-8201a の投与により認められた消化管毒性は、ラット及びサルを用いた MAAA-1181a の毒性試験でも観察された。これら消化管の毒性所見は MAAA-1181a の静脈内投与後により観察され、MAAA-9001 の投与後には観察されなかったことから、DS-8201a のこの作用は MAAA-1181a の細胞傷害性の作用機序に起因していること、DS-8201a 投与に起因する消化管毒性の少なくとも一部は血漿中に遊離した MAAA-1181a によって生じる可能性が示唆される。実際、消化管毒性はヒトにトポイソメラーゼ I 阻害剤を投与した場合の典型的な用量制限毒性である [2,3]。

リンパ／造血器毒性

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験では、20 mg/kg 以上で網赤血球比率の低下、60 mg/kg 以上で白血球系パラメータ（リンパ球数、好酸球数、好塩基球数、及び好中球数）の低下がみられた。ラットでは病理組織学的変化として 60 mg/kg 以上での骨髄の赤芽球減少及び 197 mg/kg での骨髄の骨髄球減少、60 mg/kg 以上での胸腺のリンパ球の単細胞壊死及び 197 mg/kg での胸腺萎縮、60 mg/kg 以上での顎下リンパ節及びパイエル板の濾胞の萎縮が認められ、血液学的変化はこれらリンパ／造血器の変化に関連していると考えられた。

DS-8201a のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験では、30 mg/kg で骨髄の赤芽球減少に伴う網赤血球比率の低下がみられた。サル 6 週間間歇投与毒性試験の高用量である 78.8 mg/kg では、さらに末梢血の赤血球系パラメータの低下もみられた。ラット及びサルにみられたリンパ／造血器の変化はいずれも休薬期間後に回復性を示した。リンパ／造血器毒性は、ラット及びサルに MAAA-1181a を投与した場合にもみられたことから、DS-8201a のこれらの作用が MAAA-1181a の細胞傷害性の作用機序に起因すること、DS-8201a に起因したリンパ／造血器毒性は少なくとも一部は血漿中に遊離した MAAA-1181a によって生じる可能性が示唆される。実際、骨髄毒性はヒトにトポイソメラーゼ I 阻害剤及び細胞傷害性抗癌剤を投与した場合の典型的な用量制限因子である [2]。

以下の毒性は、DS-8201a を投与したラットあるいはサルでみられた。

肺毒性

DS-8201a の投与では、ラットに肺毒性はみられなかったが、サルでは 30 mg/kg 以上で肺毒性を引き起こした。DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験では、投与期間終了時に 78.8 mg/kg を投与した雄 1 例に肺の白色巣、泡沫肺胞マクロファージの集簇、限局性の間質の炎症、及び肺胞水腫がみられた。78.8 mg/kg の投与では、休薬期間終了時に同様の病理組織学的変化が雄 1 例及び雌 2 例にみられたほか、肺胞マクロファージにおけるコレステリン裂隙が雌 1 例にみられた。一方、30 mg/kg の投与では、投与期間終了時に 6 例の動物に肺の変化はみられず、休薬期間終了時に 4 例中 1 例のみで肺胞水腫を伴わない肺胞マクロファージにおけるコレステリン裂隙等のごく軽微な変化がみられたのみであった。肺病変の発現率及び重篤度は用量依存的であった。DS-8201a のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験では、30 mg/kg（高用量）で投与期間終了時に泡沫肺胞マクロファージの軽微な集簇及び限局性の肺胞あるいは間質の炎症がみられた。投与期間を延長した場合でも肺病変が重篤化することはなく、30 mg/kg でサルにみられた肺の変化は 3 ヵ月間の休薬期間後の評価で可逆性が確認された。DS-8201a による肺毒性の機序全体は不明であるが、トラスツズマブ等のモノクローナル抗体による肺の副作用が癌患者で報告されている [4]。また、HER2 を標的とする初の ADC であるトラスツズマブ　エムタンシン（trastuzumab emtansine: T-DM1）はカニクイザルへの投与で肺の間質への単核細胞浸潤を引き起こしたが、この変化は T-DM1 を投与した患者にみられた肺臓炎に関連すると考えられている [5]。抗 HER2 抗体は、肺毒性の発生に関して少なくとも部分的には重要な役割を果たしているかもしれない。

腎毒性

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験では、腎機能異常がみられた。尿検査では、60 mg/kg 以上で蛋白尿がみられた。血液化学的検査では、60 mg/kg 以上で無機リンの増加、197 mg/kg で尿素窒素、クレアチニン、及びカリウムの増加並びにナトリウム及びクロールの減少がみられた。60 mg/kg 以上では腎臓の尿細管の好塩基性化及び硝子円柱等の病理組織学的変化がみられた。ラットの所見はいずれも 9 週間の休薬期間後に回復した。

DS-8201a のサル 3 ヵ月間試験では、30 mg/kg で投与終了時及び 3 ヵ月間の休薬期間終了時に腎臓の近位尿細管の核の大小不同がみられたが、尿検査及び血液化学的検査のいずれでも腎機能異常を示唆する変化はみられなかった。

皮膚毒性

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験では、20 mg/kg 以上で外傷あるいは痂皮、197 mg/kg で疎毛あるいは脱毛がみられた。病理組織学的検査では、60 mg/kg 以上で毛包における単細胞壊死、潰瘍、痂皮、表皮の肥厚、あるいは真皮における線維化及び炎症細胞浸潤がみられた。ラットでみられた皮膚の変化はいずれも 9 週間の休薬期間後に回復した。DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験では、30 mg/kg 以上で毛包の単細胞壊死、78.8 mg/kg で皮膚の黒色巣、表皮の肥厚、及び表皮／真皮の色素沈着がみられた。DS-8201a のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験では、10 mg/kg 以上で毛包の単細胞壊死、30 mg/kg 以上で皮膚の黒色巣、表皮の色素沈着がみられた。3 ヵ月間の休薬期間終了時には、皮膚病変は表皮の色素沈着を除きいずれも回復した。

精巣毒性

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験では、20 及び 60 mg/kg で精巣での精子細胞滞留がみられた。また、高用量の 197 mg/kg では重量の減少を伴う精巣及び精巣上体の小型化、精細管の変性あるいは萎縮、並びに二次的な精巣上体管内の細胞残渣及び精子減少がみられた。197 mg/kg でみられた変化は 9 週間の休薬期間終了時点で回復性はみられなかった。DS-8201a のサル 3 ヵ月間試験では、30 mg/kg でステージ V-VI 精細管における円形精子細胞の減少がみられた。サルでみられたこれらの精巣の変化は回復性を示した。

切歯毒性

DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験では、切歯に対する毒性がみられたのに対し、サルでは歯に対する毒性はみられなかった。ラットでみられた変化は、60 mg/kg 以上での切歯の白色化、歯根部における単細胞壊死、及び限局性／多巣性のエナメル器変性、197 mg/kg の雄 1 例でみられた異常象牙質形成、エナメル器下における出血、限局性のセメント質欠落、象牙質の低形成、及び歯肉炎であった。切歯の毒性は歯の種差（成体ラットにおける切歯の持続的成長）[6]によるげっ歯類特有の変化と考えられるため、成人で歯に対して毒性を示す可能性は低いと考えられる。

上記の毒性に MAAA-1181a の細胞傷害作用が関連する可能性があるが、その詳細な発現メカニズムは不明である。

以下の毒性は、MAAA-1181a を投与したラットあるいはサルでみられた。

心毒性

ラット及びカニクイザルを用いた DS-8201a の 6 週間及び 3 ヵ月間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験では、心臓の病理組織学的変化は高用量（カニクイザルでは 78.8 mg/kg、ラットでは 197 mg/kg）までみられなかった。一方、MAAA-1181a の 4 週間間歇静脈内投与（1 週間に 1 回）毒性試験では、12 mg/kg を投与されたカニクイザルの瀕死例で心筋の変性／壊死が認められた。なお、78.8 mg/kg（MAAA-1181a 換算で約 2.14 mg/kg）の DS-8201a をカニクイザルに投与した場合、心毒性はみられず、このときの MAAA-1181a の Cmax は、カニクイザルに MAAA-1181a 一水和物 12 mg/kg（MAAA-1181a 換算）を静脈内投与した場合と比較して 3500～4100 倍低かった。また、サルに 78.8 mg/kg の DS-8201a を投与した場合の MAAA-1181a の AUC は、MAAA-1181a 一水和物 12 mg/kg（MAAA-1181a 換算）を静脈内投与した場合と比較して 12～16 倍低かった。したがって、当該サルでは MAAA-1181a の血漿中濃度が高かったため、心筋の変性及び壊死が生じた可能性がある。ヒトに推奨臨床用量の 5.4 mg/kg を投与した場合の MAAA-1181a の Cmax 及び AUC は、サルに MAAA-1181a 一水和物 12 mg/kg（MAAA-1181a 換算）を静脈内投与した場合と比較して、それぞれ 6900 倍及び 14 倍低かった。テレメトリー試験ではサルに DS-8201a を単回静脈内投与したが、78.8 mg/kg まで DS-8201a は心血管パラメータ（心電図、心拍数、及び血圧）に影響を及ぼさなかった。サル 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験では、DS-8201a を 78.8 mg/kg の投与量で投与した 1 例でのみ軽微な QTc 延長（約 14%）がみられたが、サル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験では高用量の 30 mg/kg まで心電図パラメータ、心機能検査、及び心筋トロポニン I 値の異常はみられなかった。さらに、MAAA-1181a は 10 μmol/L（約 5000 ng/mL）までヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子チャネル電流を阻害しなかった。以上より、DS-8201a がヒトで心毒性を引き起こす可能性は低いと考えられる。

眼毒性

ラット及びサルを用いた MAAA-1181a の 4 週間間歇投与毒性試験において、ラットでは 3 mg/kg 以上、サルでは 12 mg/kg で角膜上皮の単細胞壊死がみられたが、4 週間の休薬期間後に回復した。ヒトに 5.4 mg/kg の DS-8201a を投与した場合 MAAA-1181a の Cmax（7.2 ng/mL）は、ラットに 3 mg/kg を投与した場合（Cmax: 雄 4420 ng/mL、雌 2610 ng/mL）と比較して 490 倍低く、MAAA-1181a の AUC21d（30.5 ng·d/mL）はラットに 3 mg/kg を投与した場合（AUC1d: 雄 42.2 ng·d/mL、雌 28.9 ng·d/mL）と同程度であった。臨床試験（DS8201-A-U201）でヒトに DS-8201a を推奨臨床用量の 5.4 mg/kg を投与した場合の MAAA-1181a の Cmax 及び AUC21d は、サルに MAAA-1181a 一水和物を 12 mg/kg（MAAA-1181a として算出）を静脈内投与した場合（C0: 雄 52,100 ng/mL、雌 46,900 ng/mL、AUC1d: 雄 473 ng·d/mL、雌 384 ng·d/mL）と比較して、それぞれ 6900 倍及び 14 倍低かった。

上記の毒性に MAAA-1181a の細胞傷害作用が関連する可能性があり、MAAA-1181a の曝

露量、特に Cmax が高かったために生じた可能性が高いと考えられるが、詳細な発現メカニズムは不明である。

9.2　遺伝毒性

MAAA-1181a の in vitro 遺伝毒性試験では、細菌に対して遺伝子突然変異誘発性はみられなかったが、哺乳類培養細胞に対して染色体の構造異常を誘発した。雄ラットの骨髄を用いた in vivo 小核試験では、MAAA-1181a 一水和物 0.05 mg/kg（MAAA-1181a 換算）以上を単回静脈内投与した場合、MAAA-1181a には小核誘発性があることが示された。臨床試験（DS8201-A-U201）でヒトに DS-8201a を推奨臨床用量の 5.4 mg/kg を投与後の MAAA-1181a の血漿中 AUC（AUC21d: 30.5 ng·d/mL）は、雄ラットに MAAA-1181a 一水和物 3 mg/kg（MAAA-1181a 換算）を単回投与後（AUC1d: 27.8 ng·d/mL）より高かった。したがって、DS-8201a の臨床使用によって遺伝毒性が生じ、二次発がんにつながる可能性は否定できない。

9.3　生殖発生毒性

ICH S9 に準拠し、生殖発生毒性試験は実施していない。ガイドラインでは、遺伝毒性が陽性で一般毒性試験で分裂の速い細胞を標的とする抗癌剤や、発生毒性を誘発することが既に知られている系統の抗癌剤については、胚胎児毒性試験は必須でないとされている。ラット及びサルを用いた DS-8201a 又は MAAA-1181a の毒性試験では、分裂の速い細胞（リンパ／造血器、消化管、又は精巣）に対する毒性作用が示された。MAAA-1181a は、哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験及びラットを用いた in vivo 小核試験で遺伝毒性を示した。トラスツズマブの製造販売後有害事象報告では、妊娠中の投与によって羊水過少が生じ、致死的な肺低形成、骨格異常、及び新生児死亡が発現したことが示されている[1]。MAAA-1181a 及びトラスツズマブの特性から、DS-8201a は胎児毒性を惹起する可能性があると考えられる。

9.4　光毒性

MAAA-1181a の in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込みによる光安全性試験では、光毒性の潜在的リスクが示された。ただし、有色ラットを用いた MAAA-1181a の単回投与光毒性試験では、3 mg/kg（最高用量）まで光毒性はみられなかった。ラットに 3 mg/kg を投与した場合の MAAA-1181a の血漿中濃度は 90.5 ng/mL であり、臨床試験（DS8201-A-U201）でヒトに DS-8201a を推奨臨床用量の 5.4 mg/kg で投与した場合の Cmax（7.2 ng/mL）の 13 倍であった。また、太陽光波長内でのリンカー部分と MAAA-1181a を含む化合物の光吸収性は MAAA-1181a のみの光吸収性とよく一致したことから、リンカー部分の光吸収性は低く、リンカー部分が光毒性を発現するリスクは低いと考えられた。なお、臨床試験における有害事象の発現状況からも、光毒性に関連する安全性上の懸念は示唆されていない。以上の結果から、DS-8201a を投与した場合の光毒性のリスクは低いと考えられる。

10. 結論

DS-8201a は、臨床の投与レジメンと同じ反復投与（3 週間に 1 回）により、ラットで 197 mg/kg まで、サルで 30 mg/kg まで良好な忍容性を示した。DS-8201a の標的臓器／組織は、消化管、リンパ／造血器（胸腺、リンパ節、及び骨髄）、肺、皮膚、腎臓、及び精巣であった。

DS-8201a のラット及びサル間歇投与毒性試験では、DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK を評価した。DS-8201a を推奨臨床用量の 5.4 mg/kg で投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の全身曝露量（AUC）に基づく安全域を表 2.6.6.10-1 に示す。推奨臨床用量での DS-8201a 及び総抗体の AUC は、ラット及びサルでみられたリンパ／造血器毒性、肺毒性、腎毒性、及び精巣毒性等の主要毒性に対する NOAEL での値より低かったことから、DS-8201a の臨床使用における一定の治療域が示唆される。一方、ヒトに 5.4 mg/kg の DS-8201a を投与した場合の DS-8201a 及び総抗体の AUC は、消化管毒性及び皮膚毒性に対する NOAEL での動物での値を上回った。ただし、動物でみられたこれらの毒性は可逆的であり、臨床使用では管理可能と考えられた。推奨臨床用量の DS-8201a を投与した場合の MAAA-1181a の AUC は、ラット及びサルにおける全ての投与量の AUC 値を上回った。血漿中に遊離した MAAA-1181a は消化管毒性及びリンパ／造血器毒性を引き起こす可能性があるため、臨床では強い作用が現れる可能性がある。臨床試験で発現した DS-8201a に起因する主な有害事象は、悪心、嘔吐、下痢、便秘、貧血、好中球数減少、及び血小板数減少であった。ただし、これらの有害事象の多くは重篤ではなく、管理可能であった。

特定された毒性作用の重篤度とその回復性、並びに曝露マージンに基づき、進行癌患者に DS-8201a を投与することは非臨床安全性データから妥当と判断された。

表 2.6.6.10-1　DS-8201a を推奨臨床用量でヒトに投与した場合とラット及びサルの標的臓器毒性の NOAEL 又は毒性用量で投与した場合の全身曝露量（AUC）に基づく DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の曝露マージン

試験の種類／標的臓器	種	用量/NOAEL 又は毒性用量 (mg/kg)	性	DS-8201a		総抗体		MAAA-1181a	
				AUC21d (μg·d/mL)	MOE	AUC21d (μg·d/mL)	MOE	AUC21d (ng·d/mL)	MOE
臨床試験 [a]	ヒト	5.4	NA	559	NA	720	NA	30.5	NA
消化管毒性	ラット	20	雄	2676	4.8	3035	4.2	4.68	0.15
			雌	2339	4.2	2736	3.8	3.02	0.099
	サル	3	雄	286	0.51	297	0.41	0.634	0.021
			雌	285	0.51	319	0.44	0.294	0.0096
リンパ／造血器毒性	ラット	20	雄	2676	4.8	3035	4.2	4.68	0.15
			雌	2339	4.2	2736	3.8	3.02	0.099
	サル	10	雄	1390	2.5	1450	2.0	3.06	0.10
			雌	1110	2.0	1150	1.6	2.39	0.078
		30	雄	5030	9.0	5960	8.3	11.0	0.36
			雌	4910	8.8	5500	7.6	13.5	0.44
肺毒性	ラット	197	雄	14264	26	17895	25	40.3	1.3
			雌	19818	35	22533	31	32.4	1.1
	サル	10	雄	1390	2.5	1450	2.0	3.06	0.10
			雌	1110	2.0	1150	1.6	2.39	0.078
		30	雄	5030	9.0	5960	8.3	11.0	0.36
			雌	4910	8.8	5500	7.6	13.5	0.44
腎毒性	ラット	20	雄	2676	4.8	3035	4.2	4.68	0.15
			雌	2339	4.2	2736	3.8	3.02	0.099
		60	雄	6756	12	8069	11	14.4	0.47
			雌	7391	13	8448	12	10.0	0.33
	サル	10	雄	1390	2.5	1450	2.0	3.06	0.10
			雌	1110	2.0	1150	1.6	2.39	0.078
		30	雄	5030	9.0	5960	8.3	11.0	0.36
			雌	4910	8.8	5500	7.6	13.5	0.44
皮膚毒性	ラット	20	雄	2676	4.8	3035	4.2	4.68	0.15
			雌	2339	4.2	2736	3.8	3.02	0.099
	サル	3	雄	286	0.51	297	0.41	0.634	0.021
			雌	285	0.51	319	0.44	0.294	0.0096
		10	雄	1390	2.5	1450	2.0	3.06	0.10
			雌	1110	2.0	1150	1.6	2.39	0.078
精巣毒性	ラット	20	雄	2676	4.8	3035	4.2	4.68	0.15
			雌	2339	4.2	2736	3.8	3.02	0.099
	サル	10	雄	1390	2.5	1450	2.0	3.06	0.10
			雌	1110	2.0	1150	1.6	2.39	0.078
		30	雄	5030	9.0	5960	8.3	11.0	0.36
			雌	4910	8.8	5500	7.6	13.5	0.44

NOAEL was underlined.
AUC21d, area under the concentration-time curve up to 21 days at Cycle 1 in human and the steady state in animals; MOE, margin of exposure; NA, not applicable; NOAEL, no observed adverse effect level.
[a] Study No. DS8201-A-U201

11. 参考文献

1. ハーセプチン®静注用 60／ハーセプチン®静注用 150 [添付文書]. 中外製薬株式会社; 2019 Feb.
2. Pitot HC, Goldberg RM, Reid JM, et al. Phase I dose-finding and pharmacokinetic trial of irinotecan hydrochloride (CPT-11) using a once-every-three-week dosing schedule for patients with advanced solid tumor malignancy. Clin Cancer Res. 2000;6(6):2236-44.
3. Hecht JR. Gastrointestinal toxicity of irinotecan. Oncology 1998;12(8 Suppl 6):73-8.
4. Kang HJ, Park JS, Kim DW, et al. Adverse pulmonary reactions associated with the use of monoclonal antibodies in cancer patients. Respir Med. 2012;106(3):443-50.
5. Kadcyla [pharmacology review(s)]. South San Francisco, CA: Genentech, Inc.; 2013.
6. Satoh H, Uesugi Y, Kawabata T, et al. Morphological classification of dental lesions induced by various antitumor drugs in mice. Toxicol Pathol. 2001;29(3):292-9.

目次

1. 毒性試験：一覧表 2
2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 10
5. 単回投与毒性試験 12
6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 13
7. 反復投与毒性試験：重要な試験 14
7.1 DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験 14
7.2 DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験 26
7.3 DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験 39
7.4 DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験 45
8. *In Vitro* 遺伝毒性試験 53
8.1 MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験 53
8.2 MAAA-1181a の染色体異常試験 56
9. *In Vivo* 遺伝毒性試験 58
9.1 MAAA-1181a のラット骨髄小核試験 58
10. がん原性試験 59
11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 59
12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 59
13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 59
14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 59
15. 新生児を用いた試験 59
16. 局所刺激性試験 59
17. その他の毒性試験 60
17.1 組織交差反応性試験 60
17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験 61
17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験 68
17.4 MAAL-9001 のラット 6 週間間歇投与試験 75
17.5 MAAL-9001 のサル 6 週間間歇投与毒性試験 77
17.6 MAAA-1181a の光毒性試験 79

1.　毒性試験：一覧表（1/3）

Type of Study	Species and Strain	Test Article	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity	Rats/ Crl:CD(SD)	DS-8201a	Intravenous	Q3w 6 Weeks	20, 60, 197[a]	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.2-1	4.2.3.2
	Cynomolgus monkeys	DS-8201a	Intravenous	Q3w 6 Weeks	10, 30, 78.8	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.2-2	4.2.3.2
	Cynomolgus monkeys	DS-8201a	Intravenous	Q3w 6 Weeks	10, 30	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.2-3	4.2.3.2
	Cynomolgus monkeys	DS-8201a	Intravenous	Q3w 3 Months	3, 10, 30	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.2-4	4.2.3.2

q3w, once every 3 weeks.
The underlined doses in the repeated dose toxicity studies are the highest non-severely toxic dose.
[a] The highest dose was less than the severely toxic dose in 10% of the animals

1.　毒性試験：一覧表（2/3）

Type of Study	Species and Strain	Test Article	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Genotoxicity: Bacterial Reverse Mutation of MAAA-1181a	*S. typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537); *E. coli* (WP2*uvrA*)	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	-	Initial: 1.5-5000 µg/plate Confirmatory: 313-5000 µg/plate	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.3.1-1	4.2.3.4.1
Genotoxicity: Chromosome Aberration of MAAA-1181a	CHL/IU cells	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	-	0.0125-3 µg/mL	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.3.1-2	4.2.3.4.1
Genotoxicity: Bone Marrow Micronucleus of MAAA-1181a	Rats/ Crl:CD(SD)	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous	Single	0.025, 0.05, 0.1, 0.2	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.3.2-1	4.2.3.4.2
Other Toxicity Studies: Tissue Cross Reactivity Study	Human tissues	DS-8201a	In vitro	-	-	Yes	[redacted] USA	4.2.3.7.7-1	4.2.3.7.7
	Cynomolgus monkey tissues	DS-8201a	In vitro	-	-	Yes	[redacted] USA	4.2.3.7.7-2	4.2.3.7.7

[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.

1.　毒性試験：一覧表（3/3）

Type of Study	Species and Strain	Test Article	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAA-1181a	Rats/ Crl:CD(SD)	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous	Qw 4 Weeks	3, 10, 30[b]	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-3	4.2.3.7.7
	Cynomolgus monkeys	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous	Qw 4 Weeks	1, 3, 12	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-4	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAL-9001	Rats/ Crl:CD(SD)	MAAL-9001	Intravenous	Q3w 6 Weeks	197	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-5	4.2.3.7.7
	Cynomolgus monkeys	MAAL-9001	Intravenous	Q3w 6 Weeks	78.8	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-6	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Phototoxicity of MAAA-1181a	Balb/c 3T3 cells	MAAA-1181a monohydrate[a]	In vitro	-	0.195 to 25 µg/mL	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-7	4.2.3.7.7
	Rats/Iar:Long-Evans	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous	Single	1, 3	Yes	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-8	4.2.3.7.7

qw, once weekly; q3w, once every 3 weeks.
The underlined dose in the repeated dose toxicity study is the highest non-severely toxic dose.
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] The highest dose was less than the severely toxic dose in 10% of the animals.

2.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

		Test Article: DS-8201a, MAAA-1181a[a], MAAL-9001					
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Duration (Recovery Period)**	**Doses (mg/kg)**	**GLP Compliance**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose	Rats/ Crl:CD(SD)	Intravenous	Q3w, 6 Weeks (9 Weeks)	20, 60, 197	Yes	4.2.3.2-1	4.2.3.2
Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Q3w, 6 Weeks (6 Weeks)	10, 30, 78.8	Yes	4.2.3.2-2	4.2.3.2
Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Q3w, 6 Weeks	10, 30	Yes	4.2.3.2-3	4.2.3.2
Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Q3w, 3 Months (3 Months)	3, 10, 30	Yes	4.2.3.2-4	4.2.3.2
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAA-1181a	Rats/ Crl:CD(SD)	Intravenous	Qw, 4 Weeks (4 Weeks)	3, 10, 30	Yes	4.2.3.7.7-3	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAA-1181a	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Qw, 4 Weeks (4 Weeks)	1, 3, 12	Yes	4.2.3.7.7-4	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAL-9001	Rats/ Crl:CD(SD)	Intravenous	Q3w, 6 Weeks	197	Yes	4.2.3.7.7-5	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Toxicity of MAAL-9001	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Q3w, 6 Weeks	78.8	Yes	4.2.3.7.7-6	4.2.3.7.7
Other Toxicity Studies: Phototoxicity of MAAA-1181a[b]	Rats/ Iar:Long-Evans	Intravenous	Single	1, 3	Yes	4.2.3.7.7-8	4.2.3.7.7

F, female; M, male; qw, once weekly; q3w, once every 3 weeks.
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] To confirm systemic exposures to MAAA-1181a, sampling and TK measurement was done only at 0.5 hours after administration.

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（1/4）

										Test Article: DS-8201a
		AUC21d (μg·d/mL)								
Species		**Rats at Day 22[a]**		**Monkeys at Day 22[b]**		**Monkeys at Day 22[c]**		**Monkeys at Day 64[d]**		**Humans[e]**
Dose (mg/kg)		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	
DS-8201a	3							286	285	
	5.4									559
	10			1096	1067	813	567	1390	1110	
	20	2676	2339							
	30			4802	3861	2780	3040	5030	4910	
	60	6756	7391							
	78.8			10,563	9471					
	197	14,264	19,818							
Total Antibody	3							297	319	
	5.4									720
	10			1152	1247	840	616	1450	1150	
	20	3035	2736							
	30			5884	3939	3120	3430	5960	5500	
	60	8069	8448							
	78.8			12,135	10,535					
	197	17,895	22,533							

F, female; M, male.
[a] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.1)
[b] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.2)
[c] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.3)
[d] 3-month Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.4)
[e] Study No. DS8201-A-U201

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（2/4）

Test Article: DS-8201a										
AUC21d (ng·d/mL)										
Species		**Rats at Day 22[a]**		**Monkeys at Day 22[b]**		**Monkeys at Day 22[c]**		**Monkeys at Day 64[d]**		**Humans[e]**
Dose (mg/kg)		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	
MAAA-1181a	3							0.634	0.294	
	5.4									30.5
	10			3.22	1.47	1.91	1.15	3.06	2.39	
	20	4.68	3.02							
	30			11.0	8.39	8.36	9.56	11.0	13.5	
	60	14.4	10.0							
	78.8			39.3	24.7					
	197	40.3	32.4							
C0 (μg/mL)										
DS-8201a	3							78.2	98.4	
	5.4									119[f]
	10			338	363	255	167	320	352	
	20	613	615							
	30			859	699	750	755	898	1090	
	60	1740	1890							
	78.8			2520	2190					
	197	6410	5730							

F, female; M, male.
[a] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.1)
[b] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.2)
[c] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.3)
[d] 3-month Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.4)
[e] Study No. DS8201-A-U201
[f], Cmax (μg/mL)

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（3/4）

										Test Article: DS-8201a
C0 (µg/mL)										
Species		**Rats at Day 22[a]**		**Monkeys at Day 22[b]**		**Monkeys at Day 22[c]**		**Monkeys at Day 64[d]**		**Humans[e]**
Dose (mg/kg)		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	
Total Antibody	3							78.4	106	
	5.4									122[f]
	10			290	294	248	175	295	320	
	20	611	632							
	30			972	698	814	822	949	1090	
	60	2030	1780							
	78.8			2120	2050					
	197	6560	5970							
Cmax (ng/mL)										
MAAA-1181a	3							0.223	0.186	
	5.4									7.2
	10			1.14	0.834	0.683	0.482	0.842	1.28	
	20	1.41	1.19							
	30			3.76	2.85	2.78	3.05	2.33	4.86	
	60	4.20	4.36							
	78.8			12.8	13.5					
	197	13.4	14.0							

F, female; M, male.
[a] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.1)
[b] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.2)
[c] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.3)
[d] 3-month Intermittent Dose Toxicity Study (Section 7.4)
[e] Study No. DS8201-A-J201
[f], Cmax (µg/mL)

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（4/4）

									Test Article: MAAA-1181a
		AUC1d (ng·d/mL)				**C0 (ng/mL)**			
Species		**Rats at Day 29[a]**		**Monkeys at Day 22[b]**		**Rats at Day 29[a]**		**Monkeys at Day 22[b]**	
Dose (mg/kg)		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
MAAA-1181a	1			20.2	15.7			1860	1480
	3	42.2	28.9	68.2	95.2	4420	2610	6730	10,600
	10	134	108			13,600	12,100		
	12			473	384			52,100	46,900
	30	520	596			59,600	70,200		
									Test Article: MAAL-9001
		AUC21d (µg·d/mL)				**C0 (µg/mL)**			
Species		**Rats at Day 22[c]**		**Monkeys at Day 22[d]**		**Rats at Day 22[c]**		**Monkeys at Day 22[d]**	
Dose (mg/kg)		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
MAAL-9001	78.8			23,609	19,199			2720	2540
	197	28,321	23,573			6910	5340		

F, female; M, male.
[a] 4-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 17.2)
[b] 4-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 17.3)
[c] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 17.4)
[d] 6-week Intermittent Dose Toxicity Study (Section 17.5)

4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（1/2）

						Test Article: DS-8201a (Process 1)	
Batch No.	**Purity (%)**			**Mean Drug/ Ab Ratio**	**Protein concentration (mg/mL)**	**Attachment Number**	**Type of Study**
	Polymers	**Monomers**	**Fragments**				
[redacted]	0.46	99.09	0.45	7.78	19.7	4.2.3.2-1	6-week Intermittent Dose Toxicity in Rats
						4.2.3.2-2	6-week Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys
						4.2.3.7.7-1	A Tissue Cross-reactivity Study with Human Tissues
						4.2.3.7.7-2	A Tissue Cross-reactivity Study with Cynomolgus Monkey Tissues
						Test Article: DS-8201a (Process 2)	
[redacted]	0.52	98.45	1.03	7.82	20.1	4.2.3.2-3	6-week Intermittent Dose Toxicity in Monkeys
						4.2.3.2-4	3-month Intermittent Dose Toxicity in Monkeys

4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（2/2）

				Test Article: MAAA-1181a monohydrate [a]	
Batch No.	**Purity (%)**	**Related Substance (%)**	**Water Content (%)**	**Attachment Number**	**Type of Study**
1311-101	98.4	1.56	2.40	4.2.3.7.7-3	4-week Intermittent Dose Toxicity in Rats Treated with MAAA-1181a
				4.2.3.7.7-4	4-week Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated with MAAA-1181a
				4.2.3.7.7-7	In vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test with MAAA-1181a
				4.2.3.7.7-8	Single Dose Phototoxicity Study in Pigmented Rats Treated with MAAA-1181a
				4.2.3.3.1-1	Bacterial Reverse Mutation Study of MAAA-1181a
				4.2.3.3.1-2	Chromosome Aberration Study of MAAA-1181a with Mammalian Cultured Cells
				4.2.3.3.2-1	Micronucleus Study in Bone Marrow of Rats Treated Intravenously with MAAA-1181a

					Test Article: MAAL-9001 (Process 1)	
Batch No.	**Purity (%)**			**Protein concentration (mg/mL)**	**Attachment Number**	**Type of Study**
	Polymers	**Monomers**	**Fragments**			
MAA101-1	0.15	99.57	0.28	20.6	4.2.3.7.7-5	6-week Intermittent Dose Toxicity Study in Rats
					4.2.3.7.7-6	6-week Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys

[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.

5. 単回投与毒性試験

DS-8201a を用いた単回投与毒性試験は実施していない。ラット及びカニクイザルの 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験の初回投与後の変化を以下に示す。

Species/ Strain	Method of Administration, Vehicle/ Formulation	Doses (mg/kg)	Number per group and Gender	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings (mg/kg)	Attachment Number
Rats/ Crl:CD(SD)	Intravenous, 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20/Solution	20, 60, 197	Toxicity evaluation group: 10M, 10F Recovery evaluation group: 5M, 5F Toxicokinetics group: 4M, 4F	>197	No mortality ≥20: Trauma and crust formation 197: Loss of fur, sparse fur, and decreased food consumption and body weight	4.2.3.2-1
Cynomolgus monkeys	Intravenous, 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20/Solution	10, 30, 78.8	Toxicity evaluation group: 3M, 3F Recovery evaluation group: 2M, 2F	>78.8	No mortality 78.8: Diarrhea, and decreased food consumption and body weight	4.2.3.2-2

F, female; M, male.

6.　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

DS-8201a を用いた重要な試験以外の試験は実施していない。

7.　反復投与毒性試験：重要な試験

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（1/12）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Rats Treated Intravenously with DS-8201a Once per 3 Weeks for 6 Weeks Followed by a 9-week Recovery Period							**Test Article: DS-8201a**	
Species/Strain: Rats/Crl:CD(SD)			**Duration of Dosing: 6 weeks**				**Attachment No. 4.2.3.2-1**	
Initial Age: 7 weeks age			**Duration of Postdose: 9 weeks**				**Location in CTD: 4.2.3.2**	
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] **Females: [redacted] 20[redacted]**			**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**				**GLP Compliance: Yes**	
			Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20/Solution					
Special Features: DS-8201a was intravenously administered intermittently once per 3 weeks for 6 weeks (total: 3 times, Days 1, 22, and 43 of dosing). Toxicokinetic study was done on Days 1 and 22 of dosing, and Days 21 and 64 of recovery. Blood collection was done at 5 min and 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing on Days 1 and 22 of dosing, and at a time corresponding to that before dosing on Days 21 and 64 of recovery. Post dose recovery period (9 weeks) was set for control and 60 and 197 mg/kg group (5 animals for each sex).								
Severely Toxic Dose in 10% of the animals (STD_{10}): greater than 197 mg/kg in males and females								
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics of DS-8201a (mean ± SD)								
C0 (µg/mL)								
Day 1	NE	NE	439 ± 41.6	497 ± 37.7	1400 ± 47.7	1510 ± 174	4300 ± 348	5070 ± 444
Day 22	NE	NE	613 ± 28.3	615 ± 31.7	1740 ± 75.5	1890 ± 130	6410 ± 121	5730 ± 558
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	8.07 ± 0.0631	7.61 ± 0.270	8.52 ± 0.827	8.67 ± 1.17	5.78 ± 2.66	6.88 ± 2.54
Day 22	NE	NE	8.47 ± 0.481	7.63 ± 0.660	8.98 ± 1.61	9.56 ± 0.731	5.20 ± 2.44	8.43 ± 1.14
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	1776 ± 64	1869 ± 188	4903 ± 493	4871 ± 542	13,824 ± 1420	15,096 ± 2432
Day 22	NE	NE	2676 ± 226	2339 ± 265	6756 ± 415	7391 ± 536	14,264 ± 4063	19,818 ± 2159
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2081 ± 75	2165 ± 247	5818 ± 560	5856 ± 445	15,130 ± 2555	17,204 ± 3752
Day 22	NE	NE	3217 ± 278	2704 ± 329	8214 ± 898	9230 ± 863	15,408 ± 5601	23,578 ± 3566

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（2/12）

							Attachment No. 4.2.3.2-1	
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics of total antibody (mean ± SD)								
C0 (µg/mL)								
Day 1	NE	NE	459 ± 48.5	514 ± 22.9	1530 ± 77.6	1470 ± 65.1	4980 ± 262	4700 ± 533
Day 22	NE	NE	611 ± 41.1	632 ± 12.7	2030 ± 191	1780 ± 86.5	6560 ± 475	5970 ± 736
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	9.79 ± 0.390	9.76 ± 0.735	10.4 ± 0.337	10.4 ± 1.16	6.12 ± 2.85	7.86 ± 3.12
Day 22	NE	NE	11.0 ± 0.376	9.04 ± 1.01	9.64 ± 1.72	11.7 ± 1.29	5.13 ± 2.41	10.3 ± 2.04
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2095 ± 106	2182 ± 156	6017 ± 579	6067 ± 231	17,481 ± 2054	17,036 ± 2396
Day 22	NE	NE	3035 ± 200	2736 ± 358	8069 ± 545	8448 ± 461	17,895 ± 5189	22,533 ± 2460
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2637 ± 118	2751 ± 284	7755 ± 780	7880 ± 348	19,457 ± 4053	20,114 ± 3618
Day 22	NE	NE	4008 ± 296	3346 ± 538	10,106 ± 1193	11,591 ± 1267	19,343 ± 7148	29,130 ± 4932

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（3/12）

							Attachment No. 4.2.3.2-1	
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics of MAAA-1181a (mean ± SD)								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NE	NE	0.819 ± 0.108	1.21 ± 0.370	2.49 ± 0.351	3.54 ± 1.21	9.89 ± 1.34	15.0 ± 3.57
Day 22	NE	NE	1.41 ± 0.284	1.19 ± 0.362	4.20 ± 0.287	4.36 ± 0.397	13.4 ± 1.06	14.0 ± 4.25
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	4.24 ± 0.506	3.16 ± 0.641	3.90 ± 1.30	3.46 ± 0.703	3.57 ± 1.24	5.34 ± 0.430
Day 22	NE	NE	6.64 ± 0.524	5.73 ± 1.95	6.14 ± 0.373	6.90 ± 1.12	3.23 ± 1.56	6.37 ± 1.30
Tmax (d)								
Day 1	NE	NE	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.220 ± 0.144	0.148 ± 0.166
Day 22	NE	NE	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.00346 ± 0	0.220 ± 0.144	0.00346 ± 0
AUC21d (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2.88 ± 0.287	2.45 ± 0.657	8.57 ± 0.456	6.86 ± 0.690	31.9 ± 3.42	28.1 ± 3.17
Day 22	NE	NE	4.68 ± 0.733	3.02 ± 0.515	14.4 ± 0.606	10.0 ± 1.24	40.3 ± 9.87	32.4 ± 3.09
AUCinf (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2.76 ± 0.206	2.35 ± 0.432	8.15 ± 1.16	6.33 ± 0.729	30.9 ± 5.63	29.5 ± 3.03
Day 22	NE	NE	5.32 ± 0.812	3.26 ± 0.815	15.8 ± 0.837	11.3 ± 1.11	39.4 ± 12.7	35.1 ± 3.32

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（4/12）

								Attachment No. 4.2.3.2-1	
Dose (mg/kg)		0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals		M:15	F:15	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Noteworthy Findings									
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations									
Crust		1	0	0	1	1	2	7	8
Defect of the teeth		0	0	1	0	0	0	0	0
Loss of fur		0	0	0	0	0	0	4	1
Sparse fur		0	0	0	0	0	0	15	12
Trauma		1	0	0	1	1	2	7	7
Whitening of the teeth		0	0	0	0	8	3	0	0
Body Weight (Δ%)[b]	**Day 3**	259.5 g	177.8 g	−1	+2	−1	−1	−5**	−4
Body Weight (Δ%)[b]	**Day 24**	381.7 g	226.8 g	−1	+3	−2	−2	−7*	−8*
Body Weight (Δ%)[b]	**Day 42**	442.9 g	247.6 g	−1	+4	−3	−1	−12*	−7
Body Weight Gain (Δ%)[b]	**Day 3**	27.2 g	11.1 g	−1	+19	−15	−18	−50**	−71**
Body Weight Gain (Δ%)[b]	**Day 24**	8.9 g	−0.3 g	−19	−33	−29	+633	−160**	+2000**
Body Weight Gain (Δ%)[b]	**Day 42**	8.9 g	3.5 g	+3	0	+1	−40	+79**	−9
Food Consumption (Δ%)[b]	**Day 2**	23.0 g/day	15.3 g/day	+4	−2	0	−3	−20##	−12*
Food Consumption (Δ%)[b]	**Day 23**	23.1 g/day	15.2 g/day	0	+11	−1	+1	−16**	−10
Food Consumption (Δ%)[b]	**Day 41**	23.1 g/d	16.0 g/d	+3	+1	+2	−8	+3	+1
Ophthalmology		-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis									
Qualitative examination									
Protein (0/1/2/3/4)[c]	**Day 39**	0/7/6/2/0	13/1/1/0/0	1/8/1/0/0$	8/1/1/0/0	2/0/3/8/2$$	13/1/0/0/1	0/0/0/4/11$$	2/2/1/6/4$$
Urinary sediments									
Sperm (−/+)	**Day 39**	4/11		0/10		1/14		14/1$$	

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test), ##P < 0.01 (Miller's test), $P < 0.05, $$P < 0.01 (Wilcoxon's rank sum test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[c] Grade: 0 (−), 1 (±), 2 (1+, 30 mg/dL), 3 (2+, 100 mg/dL), 4 (3+, ≥300 mg/dL)

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（5/12）

							Attachment No. 4.2.3.2-1		
Dose (mg/kg)		0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals		M:15	F:15	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Hematology Examined on Days 3, 24, and 44									
RET (%)	**Day 3**	7.37	4.54	6.38	4.28	5.86#	3.85*	2.05##	1.11**
RET (%)	**Day 24**	2.77	1.97	2.30*	1.72	1.61**	1.33	0.68**	0.39##
RET (%)	**Day 44**[b]	2.41	2.43	2.02	2.09	1.71**	1.78**	1.73**	1.49**
Plat. (10^3/μL)	**Day 44**[b]	945.9	1109.0	1005.6	1138.8	1058.7*	1054.7	1089.5**	1019.0
WBC (10^3/μL)	**Day 3**	12.419	9.992	11.990	8.268	9.780#	6.630#	7.001##	6.284##
WBC (10^3/μL)	**Day 24**	13.527	10.562	13.127	8.979	9.911##	6.550**	7.809##	6.007**
WBC (10^3/μL)	**Day 44**[b]	8.317	6.699	8.966	6.807	6.457	5.245	5.352**	4.116#
Neutrophils (10^3/μL)	**Day 3**	1.832	1.301	1.090	0.940	0.881##	0.702	0.773##	0.546##
Neutrophils (10^3/μL)	**Day 24**	1.538	1.099	1.125	0.904	1.188	0.708#	1.617	1.419
Neutrophils (10^3/μL)	**Day 44**[b]	1.564	1.047	1.124	1.200	0.956 #	0.848	1.751	0.747
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 3**	10.034	8.312	10.401	7.020	8.427	5.655#	5.914##	5.512##
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 24**	11.417	9.091	11.461	7.721	8.286#	5.555##	5.823##	4.285##
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 44**[b]	6.323	5.346	7.409	5.221	5.115	4.036	3.293##	3.085#
Monocyte (10^3/μL)	**Day 3**	0.319	0.174	0.285	0.144	0.283	0.125	0.173##	0.088##
Monocyte (10^3/μL)	**Day 24**	0.297	0.155	0.269	0.147	0.243	0.129	0.220	0.099*
Monocyte (10^3/μL)	**Day 44**[b]	0.210	0.137	0.209	0.181	0.218	0.187	0.190	0.131
Eosinophil (10^3/μL)	**Day 3**	0.114	0.106	0.083	0.092	0.095	0.091	0.052##	0.091
Eosinophil (10^3/μL)	**Day 24**	0.122	0.111	0.111	0.137	0.094*	0.107	0.086**	0.162
Eosinophil (10^3/μL)	**Day 44**[b]	0.142	0.110	0.139	0.134	0.106	0.128	0.079#	0.124
Basophil (10^3/μL)	**Day 3**	0.043	0.029	0.040	0.021	0.028#	0.013##	0.014##	0.012##
Basophil (10^3/μL)	**Day 24**	0.047	0.031	0.045	0.022	0.022##	0.014##	0.014##	0.007##
Basophil (10^3/μL)	**Day 44**[b]	0.018	0.012	0.025	0.017	0.014	0.009	0.007#	0.007
LUC (10^3/μL)	**Day 24**	0.105	0.074	0.118	0.050	0.073	0.037#	0.049##	0.033##
LUC (10^3/μL)	**Day 44**[b]	0.058	0.048	0.062	0.057	0.048	0.037	0.031	0.025

Statistics (vs Control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test), #$P < 0.05$, ##$P < 0.01$ (Miller's test).

[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

[b] N = 10 (number of animals necropsied at the end of the dosing period)

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（6/12）

								Attachment No. 4.2.3.2-1
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Blood Chemistry (No. examined)[b]	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Urea nitrogen (mg/dL)	17.91	15.38	16.52	16.52	20.21	16.00	23.72**	18.69*
Creatinine (mg/dL)	0.287	0.321	0.275	0.350	0.302	0.323	0.322*	0.325
Inorganic phosphorus (mg/dL)	7.232	6.162	7.781	6.705	8.119*	6.769	8.167*	7.308*
Na (mEq/L)	144.9	143.6	144.3	143.4	143.5*	142.8	142.0**	141.4**
K (mEq/L)	4.31	4.37	4.34	4.18	4.43	4.15	4.62*	4.38
Cl (mEq/L)	108.4	109.1	107.2	109.5	106.9	109.1	105.8**	108.4
Necropsy								
External findings: Crust, abdomen	0	0	0	0	0	0	0	1
External findings: Crust, back	0	0	0	0	0	0	0	1
External findings: Crust, dorsal neck	0	0	0	0	1	1	0	0
External findings: Crust, ventral neck	0	0	0	0	0	0	0	1
External findings: Loss fur, ventral neck	0	0	0	0	0	0	1	0
External findings: Trauma, dorsal neck	0	0	0	0	0	0	1	0
External findings: Trauma, ventral neck	0	0	0	0	1	0	1	0
External findings: Trauma, forelimb, right	0	0	0	0	0	0	1	0
External findings: Sparse fur, back	0	0	0	0	0	0	2	0
External findings: Sparse fur, dorsal neck	0	0	0	0	0	0	8	4
External findings: Sparse fur, head	0	0	0	0	0	0	9	6
Tooth: White discoloration, incisor	0	0	0	0	10	7	0	0
Thymus: Small size	0	0	0	0	0	0	1	1
Testis: Small size, bilateral	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA
Epididymis: Small size, bilateral	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA

NA, not applicable.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] Examined on Day 44.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（7/12）

				Attachment No. 4.2.3.2-1				
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ Weight								
Testes[b]								
Absolute Weight (Δ%)[c]	3250.2 mg	NA	+2	NA	−4	NA	−57##	NA
Relative Weight (Δ%)[c]	762.9 mg/100gBW	NA	+5	NA	−1	NA	−51##	NA
Epididymises[b]								
Absolute Weight (Δ%)[c]	1048.6 mg	NA	−3	NA	−3	NA	−46##	NA
Relative Weight (Δ%)[c]	245.8 mg/100gBW	NA	0	NA	0	NA	−39**	NA
Thymus								
Absolute Weight (Δ%)[c]	425.1 mg	372.1 mg	−13	−5	−16	−22	−16	−42**
Relative Weight (Δ%)[c]	99.5 mg/100gBW	154.3 mg/100gBW	−11	−7	−13	−22	−6	−36**
Histopathology								
Cecum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	10	8	10	10
Colon								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	0	0	6	6
Duodenum								
Atrophy, villus, focal	0	2	0	0	0	1	3	6
Erosion, mucosa	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammatory cell infiltration, lamina propria	0	2	0	0	0	0	2	6
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	6	4	9	10	8	10
Epididymis (tail, head)								
Cell debris, luminal	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA
Reduced sperm, luminal	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA

BW, body weight; NA, not applicable.
Statistics (vs Control): $^{**}P < 0.01$ (Dunnett's test), $^{\#\#}P < 0.01$ (Miller's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] Total weight of right and left organs are shown.
[c] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（8/12）

					Attachment No. 4.2.3.2-1			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Histopathology								
Femoral bone marrow (left)								
Decrease, erythroblast	0	0	0	0	4	4	9	10
Decrease, myelocyte	0	0	0	0	0	0	9	10
Ileum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	2	10	10	10	10
Jejunum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	1	10	10	10	10
Kidney								
Basophilia, tubule, bilateral	0	0	0	0	3	0	9	5
Cast, hyaline	0	0	0	0	2	0	8	5
Lymph node (submandibular, left)								
Atrophy, follicle	0	0	0	0	4	1	6	7
Mammary gland (left)								
Atrophy, gland	0	0	0	NE	3	NE	10	0
Peyer's patch (ileum)								
Atrophy, follicle	0	0	0	0	2	2	6	6
Rectum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	10	8	10	10
Skin (abdomen, back, interscapular dorsal neck, ventral neck, head, and/or forelimb)								
Crust	NE	NE	NE	NE	1	1	2	1
Fibrosis, dermal	NE	NE	NE	NE	1	1	2	2
Inflammatory cell infiltration, dermal	NE	NE	NE	NE	1	1	2	1
Single cell necrosis, hair follicle	NE	NE	NE	NE	3	4	10	10
Thickening, epidermal	NE	NE	NE	NE	1	1	2	2
Ulcer	NE	NE	NE	NE	1	1	2	1

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（9/12）

					Attachment No. 4.2.3.2-1			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Histopathology								
Sternal bone marrow								
Decrease, erythroblast	0	0	0	0	5	4	9	10
Decrease, myelocyte	0	0	0	0	0	0	9	10
Teeth (upper and lower incisor and molar, left)								
Abnormal dentin formation, incisor	0	0	0	0	0	0	10	10
Degeneration, enamel organ, unifocal/multifocal, incisor	0	0	0	0	10	9	10	10
Gingivitis, incisor	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemorrhage, sub-enamel organ tissue, incisor	0	0	0	0	0	0	10	10
Hypoplasia, dentin, incisor	0	0	0	0	0	0	7	4
Lack, cementum, focal, incisor	0	0	0	0	0	0	10	10
Single cell necrosis, base area, incisor	0	0	0	0	5	3	9	10
Testis								
Degeneration/atrophy, tubular	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA
Retention, spermatid	0	NA	4	NA	10	NA	0	NA
Thymus								
Atrophy	0	0	0	0	0	0	1	1
Single cell necrosis, lymphocyte	0	0	0	0	3	1	10	8
No. Animals (No. satellite group)	M:15 (4)	F:15 (4)	M:10 (4)	F:10 (4)	M:15 (4)	F:15 (4)	M:15 (4)	F:15 (4)
Anti-Drug Antibody Analysis　Day 43	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings; NA, not applicable.
a Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（10/12）

						Attachment No. 4.2.3.2-1		
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
Recovery Period								
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:5	F:5	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Clinical Observations								
Crust	0	0	NE	NE	0	1	1	2
Defect of the teeth	0	0	NE	NE	0	1	2	1
Loss of fur	0	0	NE	NE	0	0	1	1
Overgrowth of the teeth	0	0	NE	NE	0	0	4	4
Sparse fur	0	0	NE	NE	0	0	4	3
Trauma	0	0	NE	NE	0	0	0	1
Whitening of the teeth	0	0	NE	NE	4	5	2	4
Body Weight (Δ%)[b] Day 63	570.8 g	307.2 g	NE	NE	−2	−5	+1	−4
Body Weight Gain (Δ%)[b] Day 63	6.4 g	1.8 g	NE	NE	+3	0	−16	−56
Food Consumption (Δ%)[b] Day 62	24.8 g/d	18.0 g/d	NE	NE	−3	−18**	−4	−9
Urinalysis								
Qualitative examination								
Protein (0/1/2/3/4)[c] Day 36	1/2/2/0/0	4/1/0/0/0	NE	NE	0/1/0/2/2	5/0/0/0/0	0/0/2/2/1$	1/1/1/2/0
Urinary sediments								
Sperm (−/+) Day 36	0/5	NA	NE	NE	1/4	NA	4/1$	NA

NA, not applicable; NE, not examined; Statistics (vs Control): ** $P < 0.01$ (Dunnett's test), $ $P < 0.05$ (Wilcoxon's rank sum test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 and w/v% polysorbate 20.

[b] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

[c] Grade: 0 (−), 1 (±), 2 (1+, 30 mg/dL), 3 (2+, 100 mg/dL), 4 (3+, ≥300 mg/dL).

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（11/12）

							Attachment No. 4.2.3.2-1		
Dose (mg/kg)		**0 (Control)[a]**		**20**		**60**		**197**	
Recovery Period									
No. of Animals		**M:5**	**F:5**	**M:0**	**F:0**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Hematology									
RET (%)	**Day 64[b]**	**1.76**	**1.72**	**NE**	**NE**	**1.90**	**1.80**	**2.32***	**1.90**
Plat. (10^3/μL)	**Day 64[b]**	**890.6**	**999.2**	**NE**	**NE**	**936.6**	**965.6**	**1171.6****	**1121.2**
WBC (10^3/μL)	**Day 64[b]**	**9.290**	**5.854**	**NE**	**NE**	**7.942**	**4.546**	**8.638**	**4.190***
Monocyte (10^3/μL)	**Day 64[b]**	**0.284**	**0.240**	**NE**	**NE**	**0.326**	**0.170**	**0.356**	**0.148***
Blood Chemistry		**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Necropsy									
Tooth: White discoloration, incisor		**0**	**0**	**NE**	**NE**	**2**	**1**	**1**	**4**
Tooth: Defect, incisor		**0**	**0**	**NE**	**NE**	**0**	**0**	**2**	**0**
Tooth: Overgrowth, incisor		**0**	**0**	**NE**	**NE**	**0**	**0**	**3**	**4**
Testis: Small size, bilateral		**0**	**NA**	**NE**	**NE**	**0**	**NA**	**5**	**NA**
Epididymis: Small size, bilateral		**0**	**NA**	**NE**	**NE**	**0**	**NA**	**5**	**NA**
Organ Weight									
Testes[c]									
Absolute Weight (Δ%)[d]		**3420.6 mg**	**NA**	**NE**	**NE**	**+6**	**NA**	**−59 ****	**NA**
Relative Weight (Δ%)[d]		**638.0 mg/100gBW**	**NA**	**NE**	**NE**	**+7**	**NA**	**−60 ****	**NA**
Epididymises[c]									
Absolute Weight (Δ%)[d]		**1286.2 mg**	**NA**	**NE**	**NE**	**+7**	**NA**	**−47 ****	**NA**
Relative Weight (Δ%)[d]		**237.4 mg/100gBW**	**NA**	**NE**	**NE**	**+9**	**NA**	**−48 ****	**NA**

-, no noteworthy findings.
BW, body weight; NA, not applicable; NE, not examined.
Statistics (vs Control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] At end of recovery period
[c] Total weight of right and left organs are shown.
[d] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

7.1　DS-8201a のラット 6 週間間歇投与毒性試験（12/12）

					Attachment No. 4.2.3.2-1			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		20		60		197	
Recovery Period								
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology								
Epididymis (tail, head)								
Cell debris, luminal	1	NA	NE	NE	0	NA	5	NA
Reduced sperm, luminal	0	NA	NE	NE	0	NA	5	NA
Kidney								
Basophilia, tubule, bilateral	0	0	NE	NE	2	0	5	0
Cast, hyaline	0	0	NE	NE	1	0	4	0
Mammary gland (left)								
Atrophy, gland	0	0	NE	NE	0	NE	3	0
Teeth (upper and lower incisor and molar, left)								
Abnormal dentin formation, incisor	0	0	NE	NE	0	0	5	5
Degeneration, enamel organ, unifocal/multifocal, incisor	0	0	NE	NE	0	0	5	5
Hemorrhage, sub-enamel organ tissue, incisor	0	0	NE	NE	0	0	1	1
Lack, cementum, focal, incisor	0	0	NE	NE	0	0	1	4
Root fracture, incisor	0	0	NE	NE	0	0	1	4
Testis								
Degeneration/atrophy, tubular	0	NA	NE	NE	0	NA	5	NA
No. Animals (No. satellite group)	M:5 (4)	F:5 (4)	M:0 (4)	F:0 (4)	M:5 (4)	F:5 (4)	M:5 (4)	F:5 (4)
Anti-Drug Antibody Analysis　Day 64[b]	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings; NA, not applicable; NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] At end of recovery period

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（1/13）

Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with DS-8201a Once per 3 Weeks for 6 Weeks Followed by a 6-week Recovery Period			**Test Article: DS-8201a**					
Species/Strain: Cynomolgus monkeys			**Duration of Dosing: 6 weeks**			**Attachment No. 4.2.3.2-2**		
Initial Age: 3 to 7 years age			**Duration of Postdose: 6 weeks**			**Location in CTD: 4.2.3.2**		
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] Females: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**			**GLP Compliance: Yes**		
			Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20/Solution					
Special Features: Toxicokinetics study was done on Days 1 and 22 of dosing and Days 21 and 43 of recovery. Blood collection was done 5 min and 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing on Days 1 and 22 of dosing and at a time corresponding to that before dosing on Days 21 and 43 of recovery. Post dose recovery period (42 days) was set for 30 and 78.8 mg/kg treated groups (2 animals/each sex/group).								
Highest Non-Severely Toxic Dose: 30 mg/kg in males and females								
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics of DS-8201a (mean ± SD)								
C0 (µg /mL)								
Day 1	NE	NE	271± 38.8	291 ± 9.23	907 ± 128	891 ± 81.2	2600 ± 573	2080 ± 120
Day 22	NE	NE	338 ± 40.1	363 ± 46.4	859 ± 150	699 ± 69.3	2520 ± 156	2190 ± 275
t1/2 (day)								
Day 1	NE	NE	4.96 ± 0.833	5.07 ± 0.904	7.47 ± 0.624	6.59 ± 1.36	7.42 ± 0.814	5.99 ± 0.780
Day 22	NE	NE	5.03 ± 1.63	5.26 ± 1.12	7.01 ± 0.505	6.30 ± 0.474	8.52 ± 1.14	6.32 ± 2.33
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	1050 ± 123	1057 ± 216	3611 ± 594	3442 ± 198	9338 ± 1243	7778 ± 1435
Day 22	NE	NE	1096 ± 264	1067 ± 157	4802 ± 1002	3861 ± 534	10,563 ± 774	9471 ± 638[b]
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	1098 ± 105	1113 ± 250	4132 ± 780	3769 ± 339	10,590 ± 1220	8406 ± 1485
Day 22	NE	NE	1161 ± 313	1128 ± 199	5468 ± 1291	4249 ± 592	12,455 ± 774	9713 ± 2651

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（2/13）

								Attachment No. 4.2.3.2-2
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics of total antibody (mean ± SD)								
C0 (µg /mL)								
Day 1	NE	NE	268 ± 33.3	267 ± 8.44	1010 ± 73.4	885 ± 86.9	2580 ± 521	2200 ± 127
Day 22	NE	NE	290 ± 35.9	294 ± 28.6	972 ± 176	698 ± 87.7	2120 ± 109	2050 ± 101
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	5.63 ± 1.14	5.67 ± 1.01	8.69 ± 0.910	6.81 ± 3.07	8.48 ± 0.777	6.80 ± 0.841
Day 22	NE	NE	5.53 ± 1.83	5.90 ± 1.45	10.1 ± 1.58	8.50 ± 0.847	9.15 ± 1.13	7.18 ± 2.35
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	1065 ± 90	1087 ± 230	4318 ± 654	3936 ± 198	10,026 ± 1199	8962 ± 1451
Day 22	NE	NE	1152 ± 342	1247 ± 338	5884 ± 1167	3939 ± 481	12,135 ± 794	10,535 ± 901[b]
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	1138 ± 62	1169 ± 277	5220 ± 1002	4486 ± 451	11,889 ± 1225	9971 ± 1483
Day 22	NE	NE	1251 ± 421	1357 ± 409	7565 ± 1893	4712 ± 633	14,859 ± 758	11,252 ± 3145

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（3/13）

Attachment No. 4.2.3.2-2

Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics of MAAA-1181a (mean ± SD)								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NE	NE	0.896 ± 0.270	1.25 ± 0.305	3.55 ± 1.36	3.01 ± 0.723	11.0 ± 1.10	16.4 ± 11.6
Day 22	NE	NE	1.14 ± 0.399	0.834 ± 0.0630	3.76 ± 0.633	2.85 ± 0.567	12.8 ± 1.30	13.5 ± 5.95
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	4.38 ± 0.539	3.07 ± 1.85	3.97 ± 1.12	4.58 ± 3.19	4.32 ± 0.638	5.59 ± NC[b]
Day 22	NE	NE	3.13 ± 0.668	1.68 ± 0.403	5.79 ± 2.18	4.77 ± 2.59	5.16 ± 0.941	4.78 ± 1.73
Tmax (d)								
Day 1	NE	NE	0.125 ± 0.144	0.0289 ± 0.0221	0.0917 ± 0.112	0.142 ± 0.137	0.683 ± 1.30	1.87 ± 1.55
Day 22	NE	NE	0.0289 ± 0.0211	0.0417 ± 0.00	0.0417 ± 0.00	0.0917 ± 0.112	0.0417 ± 0.00	0.0917 ± 0.112
AUC21d (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2.79 ± 0.784	1.93 ± 0.131	9.06 ± 2.13	9.60 ± 2.83	44.9 ± 15.1	73.9 ± 48.2
Day 22	NE	NE	3.22 ± 1.18	1.47 ± 0.258	11.0 ± 2.47	8.39 ± 2.42	39.3 ± 9.34	24.7 ± 3.72
AUCinf (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	2.69 ± 0.669	2.10 ± 0.138	8.72 ± 2.43	9.59 ± 2.26	41.0 ± 11.5	38.8 ± NC
Day 22	NE	NE	2.91 ± 0.985	1.58 ± 0.412	12.2 ± 3.26	8.64 ± 2.98	41.3 ± 9.10	28.1 ± 4.51

NE, not examined; NC, not calculated.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 2

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（4/13）

Attachment No. 4.2.3.2-2

Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1[b]
Clinical Observations								
Diarrhea	0	0	0	0	0	0	1	2
Soft stool	0	0	0	0	0	0	1	0
Abnormal skin color (blackish brown)	0	0	0	0	0	0	5	3
Body Weight (Δ%)[c] Day 42	5.120 kg	3.320 kg	+3	+6	−7	+2	−4	−6[d]
Food Consumption (Δ%)[c] Day 43	108.0 g	104.0 g	0	0	0	-1	0	+4
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography (individual)								
PR interval (ms) Day 26 10:00	87.0 *80* *71* *110*	79.3 *70* *76* *92*	94.7 *101* *96* *87*	79.3 *79* *83* *76*	91.0 *126* *101* *67* *83* *78*	88.0 *104* *71* *83* *106* *76*	98.0 *130* *80* *91* [−] *107* *82*	84.8[d] *90* *87* *80* *82*
PR interval (ms) Day 26 13:00	88.0 *80* *74* *110*	85.3 *82* *77* *97*	95.7 *103* *96* *88*	80.0 *79* *91* *70*	93.0 *128* *99* *65* *89* *84*	87.6 *102* *78* *87* *92* *79*	97.0 *126* *78* *90* [−] *108* *83*	86.3[d] *92* *90* *81* *82*

-, no noteworthy findings.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and/or background data.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] Euthanized due to moribundity on Day 26 of dosing.
[c] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[d] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（5/13）

Attachment No. 4.2.3.2-2

Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Electrocardiography (individual)								
PR interval (ms)　Day 26　17:00	84.7 *77* *69* *108*	78.0 *67* *71* *96*	95.3 *102* *92* *92*	78.0 *78* *86* *70*	88.0 *121* *97* *62* *81* *79*	84.0 *100* *76* *76* *96* *72*	94.8 *127* *76* *87* [−] *102* *82*	83.3[b] *88* *86* *79* *80*
PR interval (ms)　Day 26　21:00	93.3 *78* *76* *126*	88.0 *84* *77* *103*	91.3 *96* *92* *86*	78.3 *76* *87* *72*	95.2 *126* *100* *73* *92* *85*	86.6 *100* *71* *94* *93* *75*	94.4 *120* *70* *91* [−] *103* *88*	87.0[b] *84* *94* *84* *86*
PR interval (ms)　Day 26　03:00	87.7 *80* *75* *108*	88.0 *86* *74* *104*	92.3 *100* *92* *85*	79.0 *74* *88* *75*	94.0 *123* *105* *73* *87* *82*	87.4 *103* *75* *95* *93* *71*	93.6 *120* *77* *90* [−] *103* *78*	85.3[b] *84* *92* *82* *83*
PR interval (ms)　Day 27　10:00 (on the following day)	90.0 *78* *71* *121*	82.3 *80* *73* *94*	95.7 *109* *87* *91*	76.3 *78* *79* *72*	93.0 *130* *99* *71* *85* *80*	86.8 *100* *68* *95* *103* *68*	93.8 *126* *70* *88* [−] *99* *86*	82.8[b] *80* *90* *76* *85*

Individual values were expressed in italic font.

[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.

[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

[b] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（6/13）

Attachment No. 4.2.3.2-2

Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Electrocardiography (individual)								
QTc　Day 26　10:00	371.0 *389* *350* *374*	370.0 *366* *372* *372*	380.7 *404* *360* *378*	408.0 *516* *357* *351*	361.0 *374* *337* *358* *353* *383*	376.8 *391* *365* *365* *387* *376*	375.6 *358* *349* *402* [+] *371* *398*	380.5[b] *366* *408* *368* *380*
QTc　Day 26　13:00	367.0 *382* *349* *370*	371.0 *368* *367* *378*	377.7 *415* *350* *368*	409.0 *522* *347* *358*	358.8 *377* *348* *364* *330* *375*	373.6 *387* *372* *347* *390* *372*	373.8 *337* *357* *404* [+] *364* *407*	381.0[b] *367* *404* *375* *378*
QTc　Day 26　17:00	358.7 *370* *336* *370*	361.7 *351* *355* *379*	373.3 *409* *340* *371*	396.0 *481* *363* *344*	355.4 *370* *336* *352* *339* *380*	374.0 *390* *362* *359* *389* *370*	375.4 *355* *349* *401* [+] *370* *402*	383.0[b] *368* *405* *374* *385*
QTc　Day 26　21:00	370.0 *383* *355* *372*	376.0 *363* *368* *397*	369.3 *405* *344* *359*	388.7 *468* *352* *346*	358.8 *369* *341* *365* *340* *379*	371.4 *382* *376* *370* *368* *361*	356.2 *340* *333* *386* [+] *347* *375*	380.8[b] *358* *402* *370* *393*

Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（7/13）

Attachment No. 4.2.3.2-2

Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Electrocardiography (individual)								
QTc　Day 26　03:00	375.7 *396* *357* *374*	383.3 *378* *374* *398*	390.0 *413* *361* *396*	418.7 *532* *355* *369*	365.2 *372* *347* *379* *347* *381*	383.8 *386* *374* *394* *394* *371*	370.0 356 342 401 [+] 357 394	384.3[b] 372 399 372 394
QTc　Day 27　10:00 (on the following day)	360.3 *379* *328* *374*	362.0 *370* *351* *365*	373.7 *404* *354* *363*	381.7 *434* *355* *356*	357.6 *379* *345* *352* *341* *371*	367.2 *373* *372* *360* *369* *362*	375.0 *353* *360* *402* [+] *381* *379*	375.3[b] *369* *398* *348* *386*
Urinalysis								
Occult blood reaction　Day 41[c]	*0* *0* *0*	*4* *0* *0*	*0* *0* *0*	*0* *0* *0*	*0* *0* *0* *0* *0*	*0* *0* *3* *0* *0*	*0* *2* *0* *0* *0*	*1* *3* *0* *3* [+]

Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 4
[c] Grade: 0 (−), 1 (±), 2 (1+), 3 (2+), 4 (3+)

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（8/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Hematology **Examined on Days 2, 4, 23, 25, and 44**								
RBC (10^6/μL)　Day 44	5.847	5.357	5.413	5.127	5.358	4.866	5.008*	4.810[b]
Hb (g/dL)　Day 44	13.47	12.53	12.80	12.67	12.96	11.98	12.02*	11.58[b]
Ht (%)　Day 44	43.13	40.00	42.03	42.33	41.26	39.32	39.14*	38.23[b]
RET (%)　Day 4	1.53	1.67	1.53	2.03	0.98	1.30	0.26**	0.34#
RET (%)　Day 25	0.87	1.33	1.20	1.33	0.86	1.02	0.44*	0.50**
RET (%)　Day 44	0.73	1.10	1.00	1.37	1.06	1.42	1.88**	1.75[b]
Blood chemistry **Examined on Days 2, 23, and 44**								
AST (IU/L)　Day 44	28.3	26.0	34.7	35.7	50.6*	46.4	57.0**	62.5* [b]
ALT (IU/L)　Day 44	31.0	21.0	38.7	37.3	43.0	37.4	49.2	44.0*
Gross Pathology (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(2)
Skin: Black focus, shoulder, right	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin: Black focus, shoulder, left	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin: Black focus, forearm, right	0	0	0	0	0	0	1	1
Skin: Black focus, forearm, left	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin: Black focus, femur, right	0	0	0	0	0	0	2	0
Skin: Black focus, femur, left	0	0	0	0	0	0	2	0
Lung: White focus	0	0	0	0	0	0	1	0
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
Statistics (vs Control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett test), #$P < 0.05$ (Miller's test)
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.
[b] N = 4

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（9/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(2)
Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast	0	0	0	0	0	0	3	2
Bone marrow (sternal): Decrease, myelocyte	0	0	0	0	0	0	1	1
Duodenum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	3	3	3	3	2
Jejunum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	3	3	3	3	2
Ileum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	2	3	3	3	2
Cecum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	2	3	3	3	2
Colon: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	1	0	2	3	3	2
Rectum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	2	3	3	3	2
Kidney: Anisokaryosis, proximal tubule	0	0	0	0	0	0	3	1
Kidney: Basophilia, tubule	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidney: Cast, hyaline/cellular	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidney: Hyaline material, interstitium	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidney: Cellular infiltration, interstitium	0	0	0	0	0	0	1	0
Injection site: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	2	2	3	2
Skin: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	1	0	3	2
Skin: Thickening, epidermal	0	0	0	0	0	0	3	1
Skin: Pigmentation, epidermal	0	0	0	0	0	0	3	1
Testis: Decrease, round spermatid, Stage V-VI	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA
Lung: Inflammation, interstitial, focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Lung: Aggregation, foamy alveolar macrophage	0	0	0	0	0	0	1	0
Lung: Edema, alveolus	0	0	0	0	0	0	1	0
Anti-Drug Antibody Analysis Day 43 (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(5)	(5)	(5)	(4)
	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings; NA, not applicable.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（10/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
Recovery period								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2	M:2	F:2
Dead or Sacrificed Moribund	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0
Clinical Observations								
Diarrhea	NE	NE	NE	NE	0	0	1	0
Abnormal skin color (blackish brown)	NE	NE	NE	NE	0	0	2	2
Body Weight (kg)　Day 42	NE	NE	NE	NE	4.660	3.190	4.565	3.070
Food Consumption (g)　Day 42	NE	NE	NE	NE	108.0	99.0	108.0	108.0
Ophthalmology	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Electrocardiography	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Urinalysis	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Hematology	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Blood chemistry	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Gross Pathology	NE	NE	NE	NE				
Skin: Black focus, shoulder, right					0	0	0	1
Skin: Black focus, shoulder, left					0	0	0	1
Skin: Black focus, forearm, right					0	0	0	2
Skin: Black focus, forearm, left					0	0	1	2
Skin: Black focus, femur, right					0	0	1	1
Skin: Black focus, femur, left					0	0	1	1
Lung: White focus					0	1	1	2

NE, not examined; -, no noteworthy findings.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（11/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
Recovery period								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2	M:2	F:2
Organ Weight	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-
Histopathology	NE	NE	NE	NE				
Kidney: Anisokaryosis, proximal tubule					0	0	1	1
Injection site: Pigmentation, epidermal					0	0	0	2
Skin: Pigmentation, epidermal					0	0	1	1
Skin: Pigmentation, dermal					0	0	1	1
Lung: Inflammation, interstitial, focal					0	1	1	2
Lung: Aggregation, foamy alveolar macrophage					0	1	1	2
Lung: Edema, alveolus					0	0	1	0
Lung: Cholesterol cleft, alveolar macrophage					0	1	0	1
Anti-Drug Antibody Analysis Day 43 of recovery	NE	NE	NE	NE	-	-	-	-

NE, not examined; -, no noteworthy findings.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（12/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:1
Clinical Observations	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Decreases in spontaneous activity								1
Hypothermia								1
Diarrhea								1
Abnormal skin color (blackish brown)								1
Body Weight (kg)　Day 21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.71 [−]
Food Consumption (g)　Day 15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	24 [−]
Hematology Examined on Day 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
RBC (10^6/μL)								3.88 [−]
Hb (g/dL)								9.3 [−]
Ht (%)								31.2 [−]
Blood chemistry Examined on Day 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
AST (IU/L)								207 [+]
ALT (IU/L)								122 [+]
CK (IU/L)								2064 [+]
UN (mg/dL)								31.8 [+]
Gross Pathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Skin: Black focus, forearm, right								1
Skin: Black focus, hindlimb, around knee, right								1

NA, not applicable.
[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.2　DS-8201a のサル 6 週間間歇投与毒性試験（13/13）

					Attachment No. 4.2.3.2-2			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10		30		78.8	
Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:1
Histopathology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast								1
Bone marrow (sternal): Decrease, myelocyte								1
Duodenum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt								1
Duodenum: Regeneration, duodenal gland								1
Duodenum: Edema, lamina propria								1
Duodenum: Granulation tissue, submucosa								1
Kidney: Basophilia, tubule								1
Kidney: Proliferation, tubular epithelium								1
Kidney: Anisokaryosis, proximal tubule								1
Kidney: Cast, hyaline/cellular								1
Kidney: Hyaline material, interstitium								1
Kidney: Cellular infiltration, interstitium								1
Injection site: Single cell necrosis, hair follicle								1
Injection site: Thickening, epidermal								1
Injection site: Pigmentation, epidermal								1
Skin: Single cell necrosis, hair follicle								1
Skin: Thickening, epidermal								1
Skin: Pigmentation, epidermal								1

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, and 0.02 w/v% polysorbate 20.

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（1/6）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with DS-8201a ([redacted]) Once Per 3 Weeks for 6 Weeks					**Test Article: DS-8201a**	
Species/Strain: Cynomolgus monkeys	**Duration of Dosing: 6 weeks**				**Attachment No. 4.2.3.2-3**	
Initial Age: 3 to 6 years age	**Duration of Postdose: None**				**Location in CTD: 4.2.3.2**	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**				**GLP Compliance: Yes**	
	Vehicle/Formulation: 25 mmol/L histidine buffer (pH 5.5), 9% sucrose/Solution					
Special Features: Toxicokinetics study was done on Days 1 and 22. Blood collection was done 5 min and 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing.						
Highest Non-Severely Toxic Dose: 30 mg/kg in males and females						
Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics of DS-8201a (mean ± SD)						
C0 (µg/mL)						
Day 1	NE	NE	252 ± 9.92	213 ± 18.8	726 ± 56.0	643 ± 46.8
Day 22	NE	NE	255 ± 12.4	167 ± 123	750 ± 58.4	755 ± 48.6
t1/2 (d)						
Day 1	NE	NE	4.02 ± 1.09	5.01 ± 1.20	6.20 ± 0.682	6.33 ± 0.795
Day 22	NE	NE	4.50 ± 1.64	5.29 ± 1.68	6.51 ± 0.614	6.87 ± 1.45
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	NE	NE	738 ± 167	782 ± 213	2330 ± 339	2530 ± 429
Day 22	NE	NE	813 ± 187	567 ± 382	2780 ± 499	3040 ± 799
AUCinf (µg·d/mL)						
Day 1	NE	NE	758 ± 189	825 ± 255	2530 ± 396	2780 ± 520
Day 22	NE	NE	848 ± 229	588 ± 386	3060 ± 623	3450 ± 1130

NE, not examined.

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（2/6）

					Attachment No. 4.2.3.2-3	
Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics of total antibody (mean ± SD)						
C0 (µg/mL)						
Day 1	NE	NE	245 ± 25.1	205 ± 14.3	703 ± 53.3	642 ± 23.2
Day 22	NE	NE	248 ± 18.1	175 ± 126	814 ± 36.8	822 ± 13.1
t1/2 (d)						
Day 1	NE	NE	4.48 ± 1.37	5.64 ± 1.60	7.17 ± 0.737	7.34 ± 1.05
Day 22	NE	NE	4.75 ± 1.71	6.25 ± 2.14	7.73 ± 0.548	8.21 ± 2.16
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	NE	NE	747 ± 184	789 ± 212	2470 ± 320	2590 ± 521
Day 22	NE	NE	840 ± 229	616 ± 400	3120 ± 587	3430 ± 1170
AUCinf (µg·d/mL)						
Day 1	NE	NE	782 ± 224	855 ± 279	2790 ± 442	2960 ± 693
Day 22	NE	NE	888 ± 291	654 ± 406	3610 ± 773	4150 ± 1840

NE, not examined.

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（3/6）

					Attachment No. 4.2.3.2-3	
Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics of MAAA-1181a (mean ± SD)						
Cmax (ng/mL)						
Day 1	NE	NE	0.759 ± 0.311	0.467 ± 0.0873	3.94 ± 2.22	3.54 ± 0.420
Day 22	NE	NE	0.683 ± 0.119	0.482 ± 0.418	2.78 ± 1.30	3.05 ± 1.22
t1/2 (d)						
Day 1	NE	NE	2.95 ± 2.62	3.66 ± NC[a]	4.20 ± 1.84	3.81 ± 1.82
Day 22	NE	NE	3.40 ± NC[a]	NC[b]	3.62 ± 0.433	2.74 ± 1.05
Tmax (d)						
Day 1	NE	NE	0.0417 ± 0	1.11 ± 1.64	0.0417 ± 0	0.0417 ± 0
Day 22	NE	NE	0.125 ± 0.145	0.521 ± NC[a]	0.0417 ± 0	0.209 ± 0.145
AUC21d (ng·d/mL)						
Day 1	NE	NE	1.98 ± 0.978	1.75 ± 0.466	9.32 ± 2.42	10.3 ± 1.59
Day 22	NE	NE	1.91 ± 0.816	1.15 ± 0.999	8.36 ± 1.50	9.56 ± 2.29
AUCinf (ng·d/mL)						
Day 1	NE	NE	2.08 ± 1.08	1.83 ± NC[a]	9.14 ± 3.32	9.71 ± 0.554
Day 22	NE	NE	2.24 ± NC[a]	0.910 ± NC[a]	7.73 ± 1.22	8.76 ± 2.05

NE, not examined; NC, not calculated.
[a] N = 2
[b] N = 1

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（4/6）

					Attachment No. 4.2.3.2-3	
Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Noteworthy Findings						
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Body Weight (Δ%)[a]　Day 42	3.893 kg	2.910 kg	−4	+4	−3	+4
Food Consumption (Δ%)[a]　Day 43	102.0 g	86.0 g	+6	−5	+6	+16
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Hematology **Examined on Days 2, 4, 23, 25, 44**						
RBC (10^6/μL)　Day 23	5.323	5.300	5.227	5.007	4.973	4.597*
Hb (g/dL)　Day 23	13.10	12.80	12.70	12.00	11.73	10.97*
Ht (%)　Day 23	43.03	42.07	42.33	40.00	38.63	35.90*

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *P < 0.05 (Dunnett test)
[a] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（5/6）

Attachment No. 4.2.3.2-3

Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Blood chemistry Examined on Days 2, 23, 44						
AST (IU/L) Day 44	24.0	36.0	53.0*	52.3	50.0*	68.7
LDH (IU/L) Day 44	277.3	285.7	446.3	392.0	406.0	326.7
CK (IU/L) Day 44	148.7	203.0	295.7	177.0	234.3	209.3
Blood chemistry (individual) Examined on Days 2, 23, 44						
AST (IU/L) Day 23	58.0 *60* *45* *69*	50.0 *69* *31* *50*	76.3 *61* *82* *86*	127.3 *110* *239* [+] *33*	98.3 *53* *129* *113*	210.0 *125* *161* [+] *344* [+]
LDH (IU/L) Day 23	491.0 *363* *560* *550*	359.3 *413* *309* *356*	526.7 *536* *670* *374*	523.0 *334* *896* [+] *339*	545.3 *310* *672* *654*	788.0 *786* [+] *797* [+] *781* [+]
CK (IU/L) Day 23	919.0 *575* *675* *1507*	411.3 y	435.0 *598* *260* *447*	2118.3 *216* *5934* [+] *205*	770.3 *252* *1509* *550*	3283.3 *3809* [+] *4449* [+] *1592* [+]

Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
Statistics (vs Control): *P < 0.05 (Dunnett test)

7.3　DS-8201a（Process 2）のサル 6 週間間歇投与毒性試験（6/6）

					Attachment No. 4.2.3.2-3	
Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Necropsy	-	-	-	-	-	-
Organ Weight	-	-	-	-	-	-
Histopathology (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast	0	0	0	0	2	0
Duodenum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	3	3	3
Jejunum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	1	3	3
Ileum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	2	2	3	3
Cecum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	3	3
Colon: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	3	3
Rectum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	2	3	3
Skin: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	3	2
Injection site: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	3	3
Anti-Drug Antibody Analysis Day 43 (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（1/8）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with DS-8201a Once Per 3 Weeks for 3 Months Followed by a 3-month Recovery Period							**Test Article: DS-8201a (Process 2)**	
Species/Strain: Cynomolgus monkeys			**Duration of Dosing: 3 months**				**Attachment No. 4.2.3.2-4**	
Initial Age: 3 to 10 years age			**Duration of Postdose: 3 months**				**Location in CTD: 4.2.3.2**	
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] Females: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**				**GLP Compliance: Yes**	
			Vehicle/Formulation: 25 mmol/L histidine buffer (pH 5.5), 9% sucrose/Solution					
Special Features: Toxicokinetics study was done on Days 1 and 64. Blood collection was done 5 min and 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing on Day 1, before dosing, 5 min and 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing on Day 64, and at a time corresponding to before dosing on Recovery Days 43 and 91. Post dose recovery period (3 months) was set for 30 mg/kg treated group (2 animals/each sex).								
Highest Non-Severely Toxic Dose: 30 mg/kg in males and females								
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics of DS-8201a (mean ± SD)								
C0 (µg/mL)								
Day 1	NE	NE	101 ± 9.08	95.3 ± 8.18	295 ± 33.9	339 ± 31.8	877 ± 88.5	899 ± 58.9
Day 64	NE	NE	78.2 ± 15.0	98.4 ± 7.97	320 ± 79.0	352 ± 67.8	898 ± 130	1090 ± 202
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	3.95 ± 0.227	3.85 ± 0.183	5.56 ± 0.457	5.13 ± 0.385	7.71 ± 0.666	6.53 ± 0.524
Day 64	NE	NE	4.32 ± 0.579	3.84 ± 0.383	6.08 ± 0.521	5.05 ± 1.07	9.02 ± 1.42	7.40 ± 0.878
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	317 ± 26.9	268 ± 31.3	1220 ± 113	1080 ± 125	4090 ± 685	3770 ± 462
Day 64	NE	NE	286 ± 45.3	285 ± 29.1	1390 ± 170	1110 ± 226	5030 ± 771	4910 ± 802
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	323 ± 28.7	272 ± 32.7	1300 ± 129	1130 ± 124	4720 ± 823	4170 ± 591
Day 64	NE	NE	294 ± 49.1	290 ± 31.3	1510 ± 198	1170 ± 262	6140 ± 984	5610 ± 1070

NE, not examined.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（2/8）

								Attachment No. 4.2.3.2-4
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics of total antibody (mean　± SD)								
C0 (µg/mL)								
Day 1	NE	NE	113 ± 12.0	96.9 ± 4.83	280 ± 41.3	312 ± 58.2	845 ± 112	886 ± 92.1
Day 64	NE	NE	78.4 ± 12.1	106 ± 11.3	295 ± 59.3	320 ± 60.8	949 ± 122	1090 ± 190
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	4.33 ± 0.340	4.09 ± 0.304	6.25 ± 0.473	5.89 ± 0.587	9.25 ± 1.23	7.95 ± 1.18
Day 64	NE	NE	4.73 ± 0.569	4.18 ± 0.491	7.04 ± 0.649	5.80 ± 1.22	9.56 ± 1.28	8.31 ± 1.25
AUC21d (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	357 ± 31.8	287 ± 36.8	1280 ± 118	1130 ± 141	4300 ± 731	3790 ± 445
Day 64	NE	NE	297 ± 54.8	319 ± 41.0	1450 ± 208	1150 ± 260	5960 ± 1110	5500 ± 1040
AUCinf (µg·d/mL)								
Day 1	NE	NE	367 ± 34.9	294 ± 39.0	1400 ± 142	1220 ± 135	5330 ± 1100	4440 ± 691
Day 64	NE	NE	309 ± 59.9	327 ± 44.9	1630 ± 262	1240 ± 314	7520 ± 1570	6580 ± 1470

NE, not examined.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（3/8）

Attachment No. 4.2.3.2-4

Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics of MAAA-1181a (mean ± SD)								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NE	NE	0.242 ±0.0236	0.248 ± 0.106	0.656 ±0.0912	1.02 ± 0.451	2.71 ± 0.546	3.90 ± 1.11
Day 64	NE	NE	0.223 ±0.0708	0.186 ± 0.0277	0.842 ± 0.207	1.28 ± 0.659	2.33 ± 0.450	4.86 ± 1.88
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	NC	NC	3.33 ± 1.11	2.35 ± 0.487	7.15 ± 1.85	4.07 ± 1.42
Day 64	NE	NE	NC	NC	3.61 ± 0.545	2.36 ± 0.963	6.15 ± 1.78	3.72 ± 1.49
Tmax (d)								
Day 1	NE	NE	0.167 ± 0.144	0.469 ± 0.354	0.104 ± 0.125	0.0417 ± 0	0.167 ± 0.137	0.125 ± 0.129
Day 64	NE	NE	0.844 ± 1.44	0.167 ± 0.144	0.0417 ± 0	0.0417 ± 0	0.208 ± 0.129	0.125 ± 0.129
AUC21d (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	0.779 ± 0.122	0.874 ± 0.507	2.52 ± 0.876	2.75 ± 1.40	9.91 ± 2.68	12.0 ± 3.52
Day 64	NE	NE	0.634 ± 0.215	0.294 ±0.0532	3.06 ± 0.289	2.39 ± 1.05	11.0 ± 2.42	13.5 ± 4.43
AUCinf (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	NC	NC	2.42 ± 0.757	2.63 ± 1.08	11.2 ± 3.19	11.8 ± 4.04
Day 64	NE	NE	NC	NC	2.82 ± 0.323	2.27 ± 0.848	12.2 ± 3.32	13.1 ± 5.41

NE, not examined; NC, not calculated.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（4/8）

				Attachment No. 4.2.3.2-4				
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Abnormal skin color (blackish brown)	0	0	0	0	0	0	3	2
Body Weight (Δ%)[a]　Day 84	7.343 kg	3.723 kg	−3	+10	+1	−1	−7	+8
Food Consumption (Δ%)[a]　Week 12	108.00 g	104.83 g	0	−3	0	+2	0	−5
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac Function	-	-	-	-	-	-	-	-
Chest Computed Tomography Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
[a] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（5/8）

					Attachment No. 4.2.3.2-4			
Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals		M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Hematology Examined on Days 25, 67, 86									
RET (%)	**Day 67**	0.93	1.23	1.05	1.28	0.90	0.73	0.65	0.40**
RET (%)	**Day 86**	0.88	1.05	1.03	1.20	1.00	0.88	1.10	1.13
Blood Chemistry (individual) Examined on Days 25, 67, 86									
AST (IU/L)	**Day 86**	50.3	49.3	50.5	62.8	48.0	57.5	141.3#	69.5
LDH (IU/L)	**Day 86**	367.0 *371* *429* *222* *446*	316.0 *295* *323* *327* *319*	286.5 *300* *250* *360* *236*	471.3 *827* *329* *302* *427*	351.5 *193* *329* *420* *464*	336.0 *405* *273* *463* *203*	701.2 *1085* [+] *1580* [+] *405* *413* *373* *351*	279.2 *519* *251* *262* *228* *227* *188*
CK (IU/L)	**Day 86**	600.8 *118* *1050* *214* *1021*	501.0 *505* *395* *531* *573*	253.3 *401* *262* *167* *184*	1339.8 *3726* *226* *360* *1047*	684.5 *226* *615* *487* *1410*	319.0 *621* *244* *314* *97*	2454.3 *5794* [+] *5986* [+] *587* *561* *683* *1115*	421.2 *1482* *243* *369* *135* *124* *174*
Cardiac Troponin I Measurement		-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the control group and pre-dosing values, and background data.
Statistics (vs Control): **P < 0.01 (Dunnett test), #P < 0.05 (Miller's test)

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（6/8）

					Attachment No. 4.2.3.2-4			
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Necropsy (No. examined)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
Skin: Black focus, forearm, right	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, forearm, left	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, femur, right	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, femur, left	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, brachium, right	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, brachium, left	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, crus, right	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, crus, left	0	0	0	0	0	0	2	1
Skin: Black focus, thorax	0	0	0	0	0	0	1	1
Lung: White focus	0	0	0	0	0	0	1	1
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（7/8）

					Attachment No. 4.2.3.2-4			
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Histopathology (No. examined)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast	0	0	0	0	0	0	3	3
Bone marrow (sternal): Decrease, myelocyte	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone marrow (sternal): Brown pigment deposition, macrophage	1	0	0	1	1	0	4	1
Duodenum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	4	1	3	4	4	4
Jejunum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	3	0	1	3	4	4
Ileum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	4	0	1	2	4	3
Cecum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	1	0	1	1	4	2
Colon: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	0	0	1	0
Rectum: Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	4	0	0	1	4	2
Kidney: Anisokaryosis, proximal tubule	0	0	0	0	0	0	2	1
Injection site: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	0	0	2	0
Skin: Single cell necrosis, hair follicle	0	0	0	0	0	1	3	2
Skin: Pigmentation, epidermal	0	0	0	0	0	0	2	1
Spleen: Brown pigment deposition, macrophage	0	0	0	0	0	0	2	0
Testis: Decrease, round spermatid, Stage V-VI	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Lung: Aggregation, foamy alveolar macrophage	0	0	0	0	0	0	3	1
Lung: Inflammation, alveolus, focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Lung: Inflammation, interstitial, focal	0	0	0	0	0	0	3	1
Liver: Brown pigment deposition, Kupffer cell/hepatocyte/bile canaliculus	0	0	0	0	0	0	1	0
Anti-Drug Antibody Analysis Day 85	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings; NA, not applicable.

7.4　DS-8201a（Process 2）のサル 3 ヵ月間間歇投与毒性試験（8/8）

								Attachment No. 4.2.3.2-4
Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Recovery period								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Dead or Sacrificed Moribund	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0	0
Clinical Observations	NE	NE	NE	NE	NE	NE		
Abnormal skin color (blackish brown)							1	1
Body Weight (kg) Recovery Day 91	NE	NE	NE	NE	NE	NE	6.060	4.570
Food Consumption (g) Recovery Week 13	NE	NE	NE	NE	NE	NE	108.00	108.00
Chest Computed Tomography Examinations	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Blood Chemistry	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Necropsy	NE	NE	NE	NE	NE	NE		
Skin: Black focus, forearm, right							1	1
Skin: Black focus, forearm, left							1	1
Skin: Black focus, femur, right							1	1
Skin: Black focus, femur, left							1	1
Skin: Black focus, brachium, right							1	1
Skin: Black focus, brachium, left							1	1
Skin: Black focus, crus, right							1	0
Skin: Black focus, crus, left							1	1
Skin: Black focus, thorax							1	1
Lung: White focus							1	0
Organ Weight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Histopathology	NE	NE	NE	NE	NE	NE		
Kidney: Anisokaryosis, proximal tubule							1	1
Skin: Pigmentation, epidermal							1	1
Lung: Aggregation, foamy alveolar macrophage							1	0
Anti-Drug Antibody Analysis Day 91 of recovery	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-

-, no noteworthy findings; NE, not examined.

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験

8.1 MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験（1/3）

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Study of MAAA-1181a		**Test Article: MAAA-1181a**
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays: 2**	**Attachment No.: 4.2.3.3.1-1**
Strains: S. typhimurium and E. coli	**No. of Replicate Cultures: 3**	**Location in CTD: 4.2.3.4.1**
Metabolizing System: Phenobarbital and 5,6-Benzoflavone induced rat liver S9, 7.1%		**GLP Compliance: Yes**
Vehicle of Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	**Vehicle of Positive Controls: Water for injection and DMSO**	**Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]**
Treatment: Pre-incubation method		
Special Features: None		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

8.1　MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験（2/3）

Attachment No.: 4.2.3.3.1-1

Metabolic Activation	Test Article	Dose[a] (μg/plate)	Assay #1 No. of Revertant Colonies/plate (Mean)				
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
Without activation	Vehicle control	0	108	8	16	20	4
	MAAA-1181a monohydrate	1.5	103	7	19	22	4
		5	103	7	15	20	3
		15	116	9	19	20	4
		50	106	7	19	21	5
		150	104	7	16	20	4
		500	107	7	14	18	6
		1500[b]	101	6	15	21	5
		5000[b]	91	4	14	14	6
	Positive control[c]		698*	275*	346*	166*	265*
With activation	Vehicle control	0	97	10	21	29	5
	MAAA-1181a monohydrate	1.5	103	9	19	30	5
		5	112	9	19	29	8
		15	110	7	20	26	6
		50	117	7	20	28	5
		150	108	8	18	27	8
		500[b]	112	7	19	28	8
		1500[b]	116	7	20	31	5
		5000[b]	128	9	20	28	7
	Positive control[d]		709*	227*	375*	562*	169*

Assay #1: Dose range-finding test, Judgment (vs Vehicle control) *: The value is more than twice higher than that in the vehicle control.
[a] Calculated as MAAA-1181a
[b] Precipitation was observed on the plates after incubation for 48 hours.
[c] TA100: 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO, 0.1 μg/plate), TA1535: Sodium azide (0.5 μg/plate), WP2uvrA: 4NQO (0.2 μg/plate), TA98: 4NQO (0.2 μg/plate), TA1537: 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate (80 μg/plate)
[d] TA100: 2-Aminoanthracene (2AA, 1 μg/plate), TA1535: 2AA (2 μg/plate), WP2uvrA: 2AA (10 μg/plate), TA98: 2AA (0.5 μg/plate), TA1537: 2AA (2 μg/plate)

8.1　MAAA-1181a の細菌を用いた復帰突然変異試験（3/3）

Attachment No.: 4.2.3.3.1-1

Metabolic Activation	Test Article	Dose[a] (μg/plate)	Assay #2 No. of Revertant Colonies/plate (Mean)				
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
Without activation	Vehicle control	0	94	7	17	21	6
	MAAA-1181a monohydrate	313	106	6	16	26	5
		625[b]	104	6	13	17	5
		1250[b]	88	6	15	22	5
		2500[b]	98	7	14	15	4
		5000[b]	80	5	13	16	4
	Positive control[c]		696*	318*	283*	163*	416*
With activation	Vehicle control	0	97	7	24	32	8
	MAAA-1181a monohydrate	313	104	6	20	26	9
		625[b]	113	9	17	30	8
		1250[b]	109	8	18	30	7
		2500[b]	115	7	13	28	5
		5000[b]	117	9	18	25	5
	Positive control[d]		689*	243*	283*	585*	168*

Assay #2: Main test, Judgment (vs Vehicle control) *: The value is more than twice higher than that in the vehicle control.
[a] Calculated as MAAA-1181a
[b] Precipitation was observed on the plates after incubation for 48 hours.
[c] TA100: 4NQO, 0.1 μg/plate, TA1535: Sodium azide (0.5 μg/plate), WP2*uvrA*: 4NQO (0.2 μg/plate), TA98: 4NQO (0.2 μg/plate), TA1537: 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate (80 μg/plate)
[d] TA100: 2AA, 1 μg/plate, TA1535: 2AA (2 μg/plate), WP2*uvrA*: 2AA (10 μg/plate), TA98: 2AA (0.5 μg/plate), TA1537: 2AA (2 μg/plate)

8.2　MAAA-1181a の染色体異常試験（1/2）

Report Title: Chromosome Aberration Study of MAAA-1181d[a] with Mammalian Cultured Cells						**Test Article: MAAA-1181a monohydrate**
Test for Induction of: Chromosome aberration			**No. of Independent Assays: 1**			**Attachment No.: 4.2.3.3.1-2**
Strains: Chinese Hamster Lung (CHL/IU) cells			**No. of Replicate Cultures: 2**			**Location in CTD: 4.2.3.4.1**
Metabolizing System:PB and BF induced rat liver S9, 5%			**No. of Cells Analyzed/Culture: 150**			
Vehicle of Test Article: Dimethyl sulfoxide			**Vehicle of Positive Controls: Water for injection and physiological saline**			**GLP Compliance: Yes**
Treatment: Short-term treatment for 6 h with and without S9; continuous treatment for 24 h without S9						**Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]**
Special Features: None						
Cytotoxic Effects: Cytotoxic effect was observed in each treatment.						
Genotoxic Effects: MAAA-1181a caused statistically significant dose-dependent increase in the number of cells with structural chromosome aberrations in all treatment conditions, when compared with that in the negative control group.						
Treatment Time (h)	Metabolic Activation	Test Article	Dose (μg/mL)[b]	Relative Cell No. (%)	Aberrant Cell No. (%)	Polyploid Cell No. (%)
6	Without Activation	Vehicle control	0	100	0.0	0.0
		MAAA-1181a monohydrate	0.05	98.2	0.0	0.3
			0.1	98.5	3.3*	0.0
			0.2	71.3	16.7*	0.0
			0.3	59.6	NE	NE
			0.4	57.1	20.0*	0.0
			0.5	38.2	NE	NE
			0.8	40.7	NE	NE
			1	32.4	NE	NE
		Positive control[c]	0.15	68.4	15.3	0.0

PB/BF, Phenobarbital/5, 6-benzoflavone; NE, not examined, * A statistically significant increase compared with vehicle control by the Fisher's exact test ($p<0.05$, two-tailed)
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] Calculated as MAAA-1181a,
[c] Mitomycin C
The Cochran-Armitage trend test ($p<0.05$, two-tailed) showed these increase in the incidence of structural aberrations to be dose dependent.

8.2　MAAA-1181a の染色体異常試験（2/2）

Attachment No. 4.2.3.3.1-2

Treatment Time (h)	Metabolic Activation	Test Article	Dose (μg/mL)[a]	Relative Cell No. (%)	Aberrant Cell No. (%)	Polyploid Cell No. (%)
6	With Activation	Vehicle control	0	100	0.3	0.3
		MAAA-1181a monohydrate	0.05	96.9	1.0	0.3
			0.1	103.1	10.3*	0.3
			0.2	94.2	12.7*	0.0
			0.4	67.3	12.3*	0.7
			0.8	61.9	NE	NE
			1	52.5	14.3*	1.3
			1.5	46.6	NE	NE
			3	39.9	NE	NE
		Positive control[b]	10	78.5	16.7	0.3
24	Without Activation	Vehicle control	0	100	0.0	0.7
		MAAA-1181a monohydrate	0.0125	100.0	0.7	0.0
			0.025	106.6	3.7*	0.3
			0.05	103.5	5.3*	0.3
			0.075	85.7	NE	NE
			0.1	73.4	19.7*	0.0
			0.15	64.9	NE	NE
			0.2	51.0	51.3*	0.0
			0.3	46.3	NE	NE
		Positive control[c]	0.05	80.3	12.7	0.7

NE, not examined, * A statistically significant increase compared with vehicle control by the Fisher's exact test ($p<0.05$, two-tailed).
[a] Calculated as MAAA-1181a,
[b] Cyclophosphamide monohydrate,
[c] Mitomycin C
The Cochran-Armitage trend test ($p<0.05$, two-tailed) showed these increase in the incidence of structural aberrations to be dose dependent.

9. *In Vivo* 遺伝毒性試験

9.1 MAAA-1181a のラット骨髄小核試験

Report Title: Micronucleus Study in Bone Marrow of Rats Treated Intravenously with MAAA-1181d[a]		**Test Article: MAAA-1181a monohydrate**
Test for Induction of: Micronucleated immature erythrocytes in bone marrow	**Treatment Schedule: Single administration**	**Attachment No.: 4.2.3.3.2-1**
Species/Strain: Rats/ Crl:CD(SD)	**Collection Time: 24 hours after administration**	**Location in CTD: 4.2.3.4.2**
Age: 8 weeks old	**Method of Administration: Intravenous**	**GLP Compliance: Yes**
Cells Evaluated: Immature erythrocytes	**Vehicle/Formulation: Physiological saline /Solution**	**Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]**
No. of Cells Analyzed/Animal: IE%; 1000, MNIE%; 4000		
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: A statistically significant increase in the number of MNIE was observed in the 0.05 mg/kg group and above when compared with the negative control group.		
Evidence of Exposure: The exposure of MAAA-1181a to rats was confirmed because a statistically significant increase in the number of MNIE was observed in the 0.05 mg/kg group and above.		

Test Article	**Dose (mg/kg)**	**No. of Animals**	**IE% (Mean ± SD)**	**Number of MNIEs (/20000IEs)**	**MNIE% (Mean ± SD)**
Control[b]	0	5:M	47.3 ± 4.1	37	0.19 ± 0.04
MAAA-1181a monohydrate	0.025[c]	5:M	46.4 ± 3.7	50	0.25 ± 0.08
	0.05[c]	5:M	47.0 ± 0.8	68#	0.34 ± 0.09
	0.1[c]	5:M	48.6 ± 3.1	107#	0.54 ± 0.10
	0.2[c]	5:M	42.4 ± 5.2	324#	1.62 ± 0.38
Positive control[d]	20	5:M	40.5 ± 5.5	488#	2.44 ± 0.78

IE%, Proportion of immature erythrocytes to total erythrocytes; MNIE%, Incidence of micronucleated immature erythrocytes.
Statistics (vs vehicle control): # $P<0.01$ (Kastenbaum and Bowman's table, one-tailed)
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] Control animals were treated with physiological saline.
[c] Calculated as MAAA-1181a

10. がん原性試験

DS-8201a を用いたがん原性は実施していない。

11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

DS-8201a を用いた生殖発生毒性試験は実施していない。

12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

DS-8201a を用いた生殖発生毒性試験は実施していない。

13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

DS-8201a を用いた生殖発生毒性試験は実施していない。

14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

DS-8201a を用いた生殖発生毒性試験は実施していない。

15. 新生児を用いた試験

DS-8201a を用いた新生児を用いた試験は実施していない。

16. 局所刺激性試験

DS-8201a を用いた局所刺激性試験は実施していない。

17. その他の毒性試験

17.1 組織交差反応性試験

			Test Article: DS-8201a	
Species/Strain	**Number and Concentration**	**Positive (Specific) Staining**	**Negative staining**	**Attachment Number**
Human	3 separate individuals 1 and 10 µg/mL	1 and 10 µg/mL Cytoplasm and cell membrane of positive control NCI-N87 (human stomach cancer) cells Cytoplasm and/or cell membrane of syncytiotrophoblasts and decidual cells in the placenta Cytoplasm: bladder transitional epithelium; colonic epithelium; ocular lens fiber; fallopian tube epithelium; stomach columnar epithelium; renal tubular epithelium; duct epithelium, acinar cells, and spindle cells in the pancreas; parathyroid principal cells; gland epithelium and acinar cells in the salivary gland; prostate gland epithelium; pituitary cell (possible Rathke's pouch); squamous epithelium in the tonsil; ureter transitional epithelium; and columnar and endometrial epithelium in the uterus 10 µg/mL Cytoplasm below: epithelium of the breast; epithelium in the small intestine; apocrine gland epithelium in the skin; Hassall's corpuscle epithelium in the thymus; and thyroid follicular epithelium	Negative control MDA-MB-468 (human mammary cancer) cells Adrenal, blood, bone marrow, brain, heart, liver, lung, lymph node, peripheral nerve, ovary, spinal cord, spleen, striated muscle, and testis	4.2.3.7.7-1
Cynomolgus monkeys	3 separate individuals 1 and 10 µg/mL	1 and 10 µg/mL Cytoplasm of positive control NCI-N87 (human stomach cancer) cells	Negative control MDA-MB-468 (human mammary cancer) cells Bone marrow, brain, colon, kidney, liver, lung, skin, small intestine, spleen, and testis	4.2.3.7.7-2

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（1/7）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Rats Treated Intravenously with MAAA-1181d[a] Once a Week for 4 Weeks Followed by a 4-week Recovery Period							**Test Article: MAAA-1181a monohydrate**	
Species/Strain: Rats/Crl:CD(SD)			**Duration of Dosing: 29 days**				**Attachment No. 4.2.3.7.7-3**	
Initial Age: 7 weeks age			**Duration of Postdose: 28 days**				**Location in CTD: 4.2.3.7.7**	
Dates of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] **Females: [redacted] 20[redacted]**			**Method of Administration: Intravenous (once weekly)**				**GLP Compliance: Yes**	
			Vehicle/Formulation: Physiological saline/Solution					
Special Features: Dose levels are described as MAAA-1181a, the free form of MAAA-1181a (Conversion factor: 0.9648). Toxicokinetic study was done on Days 1 and 29 of dosing. Blood collection was done prior to dosing (only Day 29) and 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing.								
The severely toxic dose in 10% of the animals (STD_{10}): greater than 30 mg/kg in males and females								
Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3		10		30	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics MAAA-1181a (mean ± SD)								
C0 (ng/mL)								
Day 1	NE	NE	2910 ± 546	1440 ± 363	14,600 ± 3290	7430 ± 3190	65,100 ± 12700	43,800 ± 8420
Day 29	NE	NE	4420 ± 1340	2610 ± 1140	13,600 ± 2450	12,100 ± 4840	59,600 ± 12,800	70,200 ± 19,000
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	0.0373 ± 0.00621	0.0250 ± 0.0155	0.0518 ± 0.0438	0.0440 ± 0.0283	0.112 ± 0.0454	0.0639 ± 0.0458
Day 29	NE	NE	0.0361± 0.00632	0.0350 ± 0.00549	0.0609 ± 0.0567	0.0312 ± 0.00216	0.121 ± 0.0335	0.0907 ± 0.0102
AUC1d (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	27.8 ± 3.08	16.6 ± 3.09	122 ± 28.8	66.9 ± 19.6	536 ± 96.5	396 ± 58.0
Day 29	NE	NE	42.2 ± 12.6	28.9 ± 12.0	134 ± 19.6	108 ± 39.1	520 ± 81.1	596 ± 136
AUCinf (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	27.2 ± 3.52	16.2 ± 2.97	122 ± 28.7	66.9 ± 19.6	536 ± 96.5	396 ± 57.9
Day 29	NE	NE	42 ± 12.7	28.8 ± 12.0	134 ± 19.6	108 ± 39.2	520 ± 81.0	596 ± 136

NE, not examined.
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the report.
[b] Control animals were treated with physiological saline.

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（2/7）

					Attachment No.: 4.2.3.7.7-3			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3		10		30	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:14[b]	F:15
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (Δ%)[c] Day 29	416.3 g	245.1 g	−1	+1	-1	0	−4	0
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 4	17.0 g	4.6 g	−34**	−78	−39**	−54	−38**[d]	−96
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 11	16.8 g	6.5 g	−20	−38	−36**	−6	−28*	−11
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 18	7.6 g	−1.6 g	−59*	31	−29	−44	−55*	−44
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 22	19.3 g	9.1 g	27	−5	31*	9	8	4
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 25	11.1 g	−0.1 g	−64**	−800	−68**	700	−71**	1100
Body Weight Gain (Δ%)[c] Day 29	17.3 g	8.0 g	21	21	23	14	−1	49**
Food Consumption (Δ%)[c] Day 1	23.3 g/d	15.7 g/d	−14**	−5	−16**	−7	−21**[d]	−10##
Food Consumption (Δ%)[c] Day 8	24.3 g/d	16.7 g/d	−9	−7	−23**	−5	−18**[d]	−13*
Food Consumption (Δ%)[c] Day 15	23.3 g/d	16.7 g/d	−11*	-8	−20**	−10	−26**	−14*
Food Consumption (Δ%)[c] Day 22	23.3 g/d	17.2 g/d	−14	−12*	-24##	−12*	-30##	−17**
Food Consumption (Δ%)[c] Day 28	24.1 g/d	16.3 g/d	+13	+9	+15##	+13	+9	+20**
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test), ##P < 0.01 (Miller's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
a Control animals were treated with physiological saline.
b One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.
c Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.
d N = 15

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（3/7）

						Attachment No.: 4.2.3.7.7-3			
Dose (mg/kg)		0 (Control)[a]		3		10		30	
No. of Animals		M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:14[b]	F:15
Hematology Examined on Days 3, 17, and 30									
RBC (10^6/μL)	**Day 30[d]**	7.877	7.783	7.334**	7.471	7.518	7.348*	7.403*	7.265**
Hb	**Day 17**	15.87	15.79	15.25	14.83#	15.00##	14.88##	14.89##	14.56##
	Day 30[d]	15.05	14.99	14.70	14.52	14.83	14.39*	14.56	14.34*
Ht (%)	**Day 17**	49.39	48.12	47.35	45.36**	46.45##	45.36**	46.46##	44.73**
	Day 30[d]	45.06	43.49	43.87	42.55	44.43	41.84*	43.82	41.81*
MCV (fL)	**Day 30[d]**	57.25	55.96	59.84**	56.98	59.15	56.97	59.24	57.61
MCH (pg)	**Day 30[d]**	19.12	19.28	20.06*	19.45	19.75	19.61	19.67	19.74
RET (%)	**Day 3**	6.58	3.64	1.39#	0.74#	1.17##	0.55##	0.67## [c]	0.38##
	Day 17	3.21	2.49	0.92#	0.86	0.69##	0.58##	0.49##	0.36##
	Day 30[d]	2.31	1.91	1.91	1.67	2.17	1.78	2.41	2.07
WBC (10^3/μL)	**Day 30[d]**	7.859	7.367	4.646**	3.989**	5.209**	3.569**	3.668**	3.659**
Neutrophils (10^3/μL)	**Day 30[d]**	1.221	1.295	0.612**	0.648**	0.625**	0.631**	0.533**	0.644**
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 30[d]**	6.310	5.704	3.817**	3.145**	4.387**	2.762**	2.994**	2.816**
Monocyte (10^3/μL)	**Day 30[d]**	0.142	0.163	0.128	0.090##	0.115	0.085##	0.074*	0.094#
Eosinophil (10^3/μL)	**Day 30[d]**	0.122	0.144	0.050##	0.081#	0.034##	0.064##	0.042##	0.075##
Basophil (10^3/μL)	**Day 30[d]**	0.015	0.018	0.004**	0.005**	0.008*	0.003**	0.002**	0.005**
LUC (10^3/μL)	**Day 30[d]**	0.049	0.044	0.032	0.020#	0.036	0.023	0.020##	0.024
Blood Chemistryc (No. examined)		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
Glucose (mg/dL)		121.1	124.4	140.0**	157.9*	150.5**	176.5**	154.8**	204.4**
Necropsy (No. examined)		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
		-	-	-	-	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test), #P < 0.05, ##P < 0.01 (Miller's test)
[a] Control animals were treated with physiological saline.
[b] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.
[c] N = 15,
[d] N = 10, except for males given 30 mg/kg: N = 9 (number of animals necropsied at the end of the dosing period)

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（4/7）

					Attachment No.: 4.2.3.7.7-3			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3		10		30	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:14[b]	F:15
Organ Weight (No. examined)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
Thymus								
Absolute Weight (Δ%)[c]	486.7 mg	373.3 mg	−26*	−21*	−27*	−27**	−36**	−27**
Relative Weight (Δ%)[c]	122.4 mg/100gBW	161.4 mg/100gBW	−24*	−22**	−25**	−28**	−35**	−30**
Histopathology (No. examined)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
Bone marrow (femoral, left)								
Decrease, erythroblast	0	0	10	10	10	10	9	10
Decrease, myelocyte	0	0	10	10	10	10	9	10
Bone marrow (sternal)								
Decrease, erythroblast	0	0	10	10	10	10	9	10
Decrease, myelocyte	0	0	10	10	10	10	9	10
Histopathology (No. examined)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
Thymus								
Atrophy	0	0	0	0	0	0	2	1
Single cell necrosis, lymphocyte	0	0	8	7	7	8	7	8
Peyer's patch (ileum)								
Atrophy, follicle	0	0	9	8	10	9	9	9
Lymph node (submandibular, left)								
Atrophy, follicle	0	0	0	3	2	8	3	3

BW, body weight.
Statistics (vs Control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test)
[a] Control animals were treated with physiological saline
[b] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.
[c] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（5/7）

					Attachment No.: 4.2.3.7.7-3			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3		10		30	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:14[b]	F:15
Histopathology (No. examined)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
Duodenum								
Atrophy, villus, focal	0	0	3	3	5	3	7	9
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	0	0	2	1	2	1
Jejunum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	10	10	10	10	9	10
Ileum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	6	5	8	9	9	10
Cecum								
Regeneration, epithelial cell, crypt (with luminal dilatation)	0	0	0	0	0	0	1	0
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	2	5	7	8	9	10
Colon								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	1	0	3	1	4	0
Rectum								
Single cell necrosis, epithelial cell, crypt	0	0	9	8	10	10	8	10
Eyeball								
Single cell necrosis, corneal epithelium	0	0	3	2	8	7	9	10

[a] Control animals were treated with physiological saline.
[b] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（6/7）

						Attachment No.: 4.2.3.7.7-3		
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3		10		30	
Recovery Period								
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0					0	0
Clinical Observations	-	-					-	-
Body Weight (Δ%)[b] Day 28[c]	508.0 g	288.0 g					−3	−6
Body Weight Gain (Δ%)[b] Day 7	25.4 g	12.0 g					−58*	−65
Body Weight Gain (Δ%)[b] Day 28	25.6 g	7.8 g					−9	−15
Food Consumption (Δ%)[b] Day 27[c]	27.0 g/d	15.6 g/d					−3	+10
Hematology Examined on Days 1, and 29 of recovery								
RBC (10^6/μL) Day 29[c]	8.814	8.344					8.286**	7.832*
Hb (g/dL) Day 1	15.94	15.76					15.40	14.66**
Hb (g/dL) Day 29[c]	15.56	15.54					15.84	15.54
Ht (%) Day 29[c]	45.56	45.00					46.58*	45.18
MCV (fL) Day 29[c]	51.74	54.00					56.24**	57.74**
MCH (pg) Day 29[c]	17.68	18.62					19.12**	19.88*
WBC (10^3/μL) Day 1	10.654	9.454					5.996**	4.566**
WBC (10^3/μL) Day 29[c]	8.404	6.056					8.302	6.442

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test)
[a] Control animals were treated with physiological saline.
[b] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[c] At the end of recovery period

17.2 MAAA-1181a のラット 4 週間間歇投与毒性試験（7/7）

						Attachment No.: 4.2.3.7.7-3		
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3		10		30	
Recovery Period								
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
Hematology Examined on Days 1, and 29 of recovery								
Neutrophils (10^3/μL) Day 1	1.546	1.676					0.612**	0.444
Neutrophils (10^3/μL) Day 29[b]	1.726	1.004					1.788	1.262
Lymphocyte (10^3/μL) Day 1	8.532	7.244					5.110**	3.954**
Lymphocyte (10^3/μL) Day 29[b]	6.218	4.634					6.000	4.834
Monocyte (10^3/μL) Day 1	0.304	0.288					0.164*	0.056
Monocyte (10^3/μL) Day 29[b]	0.260	0.232					0.288	0.206
Eosinophil (10^3/μL) Day 1	0.152	0.152					0.050*	0.076*
Eosinophil (10^3/μL) Day 29[b]	0.134	0.122					0.134	0.086
Basophil (10^3/μL) Day 1	0.028	0.030					0.010	0.006**
Basophil (10^3/μL) Day 29[b]	0.018	0.016					0.018	0.012
LUC (10^3/μL) Day 1	0.086	0.068					0.050	0.026*
LUC (10^3/μL) Day 29[b]	0.054	0.056					0.072	0.038
Blood Chemistryb								
Glucose (mg/dL)	169.6	131.2					159.0	127.6
Necropsy	-	-					-	-
Organ Weight								
Thymus								
Absolute Weight (Δ%)[c]	350.2 mg	297.8 mg					+10	+13
Relative Weight (Δ%)[c]	72.6 mg/100gBW	108.0 mg/100gBW					+14	+21
Histopathology	-	-					-	-

-, no noteworthy findings; BW, body weight.
Statistics (vs Control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test)
[a] Control animals were treated with physiological saline.
[b]At the end of recovery period,
[c] Δ%: For the control group, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from the control are shown.

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（1/7）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with MAAA-1181d[a] Once a Week for 4 Weeks Followed by a 4-week Recovery Period		**Test Article: MAAA-1181a monohydrate**
Species/Strain: Cynomolgus monkeys	**Duration of Dosing: 4 weeks**	**Attachment No. 4.2.3.7.7-4**
Initial Age: 3 to 8 years age	**Duration of Postdose: 4 weeks**	**Location in CTD: 4.2.3.7.7**
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] Females: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration: Intravenous (once weekly)**	**GLP Compliance: Yes**
	Vehicle/Formulation: Physiological saline/Solution	

Special Features:
Dose levels are described as MAAA-1181a, the free form of MAAA-1181a (Conversion factor: 0.9648).
Toxicokinetics study was done on Days 1 and 22 of dosing. Blood collection was done 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing on Day 1 of dosing and before dosing, 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing on Day 22 of dosing.
Post dose recovery period (28 days) was set for 12 mg/kg treated group (2 animals/each sex/group).

Highest Non-Severely Toxic Dose: 3 mg/kg in males and females

Dose (mg/kg/week)	0 (Control)[b]		1		3		12	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Toxicokinetics of MAAA-1181a (mean ± SD)								
C0 (ng/mL)								
Day 1	NE	NE	1560 ± 464	1310 ± 340	8350 ± 1330	5020 ± 1280	36,600 ± 4050	22,800 ± 5470
Day 22	NE	NE	1860 ± 974	1480 ± 789	6730 ± 1470	10,600 ± 5700	52,100 ± 6220[c]	46,900 ± 20,800
t1/2 (d)								
Day 1	NE	NE	0.0571 ± 0.0319	0.0384 ± 0.00248	0.161 ± 0.00944	0.165 ± 0.0254	0.174 ± 0.0263	0.167 ± 0.0425
Day 22	NE	NE	0.107 ± 0.0592	0.0390 ± 0.000578	0.176 ± 0.0626	0.152 ± 0.0671	0.180 ± 0.0534[c]	0.123 ± 0.0279
AUC24h (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	18.0 ± 4.12	13.3 ± 2.48	79.1 ± 13.2	47.7 ± 7.50	349 ± 64.2	212 ± 43.0
Day 22	NE	NE	20.2 ± 7.64	15.7 ± 6.34	68.2 ± 13.6	95.2 ± 55.9	473 ± 20.7[c]	384 ± 170[c]
AUCinf (ng·d/mL)								
Day 1	NE	NE	18.0 ± 4.08	13.2 ± 2.49	79.2 ± 13.3	47.8 ± 7.55	349 ± 64.5	213 ± 43.5
Day 22	NE	NE	20.2 ± 7.52	15.6 ± 6.32	68.4 ± 13.5	95.3 ± 55.8	475 ± 21.7	515 ± 329

NE, not examined.
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the report.
[b] Control animals were treated with physiological saline.
[c] N = 4

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（2/7）

								Attachment No. 4.2.3.7.7-4	
Dose (mg/kg/week)		0 (Control)[a]		1		3		12	
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Noteworthy Findings									
Dead or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	1[b]	1[c]
Clinical Observations									
Vomiting		0	0	0	0	2	3	4	4
Diarrhea		0	0	0	0	0	0	2	3
Soft stool		0	0	0	0	0	0	2	3
Body Weight (Δ%)[d]	**Day 28**	4.210 kg	3.353 kg	+4	+4	+11	−2	0[e]	−9[e]
Food Consumption (Δ%)[d]	**Day 29**	108.0 g	108.0 g	−11	0	0	-26	0[e]	0[e]
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology Examined on Days 2, 4, 16, 18, 30									
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 30**	6.580	5.720	3.570*	6.213	4.010	2.767	2.450** [e]	5.743[e]
RBC (10^6/μL)	**Day 30**	5.643	4.773	5.260	4.497	5.040	5.010	5.010[e]	4.398[e]
Hb (g/dL)	**Day 18**	13.80	12.17	12.73	10.60	12.37*	12.43	12.28*[e]	11.42
Hb (g/dL)	**Day 30**	13.73	12.03	12.70	10.77	12.27	12.30	11.95[e]	10.68[e]
Plat. (10^3/μL)	**Day 30**	262.0	427.3	404.0	384.3	398.0	415.7	544.8*[e]	594.5[e]
RET (%)	**Day 4**	1.00	1.80	0.43**	0.47**	0.33**	0.50**	0.30**	0.38**
RET (%)	**Day 18**	0.97	1.30	0.67	0.63	0.43**	0.60	0.45**[e]	0.60*
RET (%)	**Day 30**	1.37	2.33	2.00	3.33	2.27	2.97	2.95*[e]	6.48*[e]
APTT (s)	**Day 16**	21.67	20.33	20.97	19.20	21.33	19.63	20.08 [e]	29.38[f]
Blood chemistry Examined on Days 2, 16, 30									
AST (IU/L)	**Day 30**	36.0	21.7	41.0	45.0	57.3	27.3	43.8 [e]	53.8#[e]
ALT (IU/L)	**Day 30**	45.3	28.7	40.0	67.7	34.0	34.7	120.3[e]	106.5#
IP (mg/dL)	**Day 30**	5.563	4.007	6.260	5.063	5.527	5.290	7.525*[e]	6.285*[e]

-, no noteworthy findings.
Statistics (vs Control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett test), #$P < 0.05$ (Miller's test)
[a] Control animals were treated with physiological saline.
[b] Euthanized due to moribundity on Day 12 of dosing
[c] Found dead on Day 23 of dosing
[d] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[e] N = 4 [f] 1 female showed shortening (11.9 s) and 1 female showed prolongation (75.2 s).

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（3/7）

							Attachment No. 4.2.3.7.7-4	
Dose (mg/kg/week)	0 (Control)[a]		1		3		12	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (No. examined)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(2)	(2)
Spleen: Atrophy, follicle	0	0	3	3	3	3	2	2
Lymph node (mesenteric): Atrophy, follicle	0	0	3	3	3	3	2	2
Peyer's patch (ileum): Atrophy, follicle	0	0	2	2	3	3	2	2
Thymus: Single cell necrosis, lymphocyte	0	0	1	2	1	2	1	1
Liver: Single cell necrosis, hepatocyte	0	0	0	0	0	0	2	1
Jejunum: Single cell necrosis, crypt epithelium	0	0	0	0	0	0	0	1
Ileum: Single cell necrosis, crypt epithelium	0	0	0	0	0	0	0	1
Eyeball: Single cell necrosis, corneal epithelium	0	0	0	0	0	0	1	0

-, no noteworthy findings.
[a] Control animals were treated with physiological saline.

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（4/7）

								Attachment No. 4.2.3.7.7-4
Dose (mg/kg/week)	0 (Control)[a]		1		3		12	
Recovery period								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Dead or Sacrificed Moribund	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0	0
Clinical Observations								
Soft stool	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1	0
Body Weight (kg) (Day 28, Individual)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	3.67 *4.78*	3.33 *3.48*
Food Consumption (g) (Day 28, Individual)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	108 *108*	108 *108*
Urinalysis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Blood chemistry	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Gross Pathology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Organ Weight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Histopathology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-

-, no noteworthy findings; NE, not examined.
Individual values were expressed in italic font.
[a] Control animals were treated with physiological saline.

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（5/7）

									Attachment No. 4.2.3.7.7-4
Dose (mg/kg/week)		0 (Control)[a]		1		3		12	
Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals									
No. of Animals		M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:1	F:1
Clinical Observations		NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Lateral position								1	0
Hypothermia								1	0
Pale oral mucosa								1	0
Suppression of touch response								1	0
Vomiting								1	1
Diarrhea								1	1
Body weight (kg)	**Day 7 or Day 21**	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.09	2.48 [−]
Food consumption (g)	**Day 12 or Day 22**							0 [−]	0 [−]
Hematology Examined on Days 2, 4, 16, 18, and 30		NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Ht (%)	**Day 4**							43.3	34.1 [−]
Lymphocyte (10^3/μL)	**Day 18**							NA	1.67 [−]
Blood Chemistry Examined on Days 2, 16, and 30		NA	NA	NA	NA	NA	NA		
AST (IU/L)	**Day 2**							90 [+]	183
ALT (IU/L)	**Day 2**							106 [+]	129 [+]
Na (mEq/L)	**Day 16**							NA	132 [−]
Cl (mEq/L)	**Day 16**							NA	94 [−]

NA, not applicable.
[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[a] Control animals were treated with physiological saline.

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（6/7）

							Attachment No. 4.2.3.7.7-4	
Dose (mg/kg/week)	0 (Control)[a]		1		3		12	
Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:1	F:1
Gross Pathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Adrenal: Enlargement							1	0
Thymus: Small size							0	1
Histopathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast							1	1
Bone marrow (sternal): Decrease, myelocyte							1	1
Spleen: Atrophy, follicle							1	1
Spleen: Atrophy, periarterial lymphoid sheath							1	1
Lymph node (mesenteric): Atrophy, follicle							1	1
Peyer's patch (ileum): Atrophy, follicle							1	1
Liver: Single cell necrosis, hepatocyte							1	0
Liver: Increase, mitosis, hepatocyte							1	0
Liver: Dilatation, bile canaliculus							1	0
Liver: Bile thrombus, bile canaliculus							1	0
Liver: Brown pigment deposition, Kupffer cell							1	1
Liver: Necrosis, hepatocyte, focal							1	0
Liver: Decrease, glycogen, hepatocyte							1	1
Heart: Degeneration/necrosis, cardiac myocytes, ventricle							1	0
Jejunum: Regeneration, epithelial cell, crypt							1	0
Ileum: Regeneration, epithelial cell, crypt							1	0
Ileum: Single cell necrosis, crypt epithelium							0	1
Cecum: Regeneration, epithelial cell, crypt							1	0
Cecum: Dilatation, crypt							1	0
Cecum: Single cell necrosis, crypt epithelium							0	1
Colon: Regeneration, epithelial cell, crypt							1	1
Colon: Dilatation, crypt							1	1
Colon: Single cell necrosis, crypt epithelium							0	1

NA, not applicable.　[a] Control animals were treated with physiological saline.

17.3 MAAA-1181a のサル 4 週間間歇投与毒性試験（7/7）

								Attachment No. 4.2.3.7.7-4
Dose (mg/kg/week)	0 (Control)[a]		1		3		12	
Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals								
No. of Animals	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:1	F:1
Histopathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Rectum: Regeneration, epithelial cell, crypt							1	1
Rectum: Dilatation, crypt							1	1
Rectum: Single cell necrosis, crypt epithelium							0	1
Adrenal: Hypertrophy, decreased lipid, cortex							1	1
Pancreas: Decrease, zymogen granule, acinus							1	1
Kidney: Dilatation, distal tubule							1	0
Skin: Atrophy, adipose tissue							1	0
Skin: Saponification, adipose tissue							1	0
Thymus: Atrophy							1	1
Lung: Bacterial infection, alveolus							1	0
Lung: Inflammatory cell infiltration, alveolus							1	0

NA, not applicable.
[a] Control animals were treated with physiological saline.

17.4 MAAL-9001 のラット 6 週間間歇投与試験（1/2）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Rats Treated Intravenously with MAAL-9001 ([redacted]) Once Per 3 Weeks for 6 Weeks			**Test Article: MAAL-9001**	
Species/Strain: Rats/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing: 6 weeks**		**Attachment No. 4.2.3.7.7-5**	
Initial Age: 7 weeks age	**Duration of Postdose: None**		**Location in CTD: 4.2.3.7.7**	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**		**GLP Compliance: Yes**	
	Vehicle/Formulation: 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, 0.0085 w/v% polysorbate 20/Solution			
Special Features: MAAL-9001 was intravenously administered intermittently once per 3 weeks for 6 weeks (total: 3 times, Days 1, 22, and 43). Toxicokinetic study was done on Days 1 and 22.　Blood collection was done at 5 min and 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing on Days 1 and 22.				
No Observed Adverse Effect Level: 197 mg/kg				
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		197	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics of MAAL-9001 (mean ± SD)				
C0 (µg/mL)				
Day 1	NE	NE	5520 ± 378	4510 ± 624
Day 22	NE	NE	6910 ± 541	5340 ± 486
t1/2 (d)				
Day 1	NE	NE	9.28 ± 2.72	10.8 ± 0.985
Day 22	NE	NE	10.7 ± 0.863	10.2 ± 0.883
AUC21d (µg·d/mL)				
Day 1	NE	NE	22,801 ± 1795	19,412 ± 2311
Day 22	NE	NE	28,321 ± 2429	23,573 ± 2190
AUCinf (µg·d/mL)				
Day 1	NE	NE	28,225 ± 4164	25,511 ± 3908
Day 22	NE	NE	36,866 ± 3264	30,354 ± 3061

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, and 0.0085 w/v% polysorbate 20.

17.4 MAAL-9001 のラット 6 週間間歇投与試験（2/2）

			Attachment No. 4.2.3.7.7-5	
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		197	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings				
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-
Necropsy	-	-	-	-
Organ Weight	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-
No. Animals (No. satellite group)	M:10 (4)	F:10 (4)	M:10 (4)	F:10 (4)
Anti-Drug Antibody Analysis Day 43	-	-	-	-

-, no noteworthy findings.
[a] Control animals were treated with 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, and 0.0085 w/v% polysorbate 20.

17.5 MAAL-9001 のサル 6 週間間歇投与毒性試験（1/2）

Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with MAAL-9001 ([redacted]) Once Per 3 Weeks for 6 Weeks			**Test Article: MAAL-9001**	
Species/Strain: Cynomolgus monkeys	**Duration of Dosing: 6 weeks**		**Attachment No. 4.2.3.7.7-6**	
Initial Age: 3 to 5 years age	**Duration of Postdose: None**		**Location in CTD: 4.2.3.7.7**	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)**		**GLP Compliance: Yes**	
	Vehicle/Formulation: 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, 0.0085 w/v% polysorbate 20/solution			
Special Features: Toxicokinetics study was done on Days 1 and 22 of dosing. Blood collection was done 5 min and 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h after the end of dosing.				
No Observed Adverse Effect Level: 78.8 mg/kg				
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		78.8	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics of MAAL-9001 (mean ± SD)				
C0 (µg /mL)				
Day 1	NE	NE	2310 ± 301	2510 ± 187
Day 22	NE	NE	2720 ± 337	2540 ± 130
t1/2 (d)				
Day 1	NE	NE	13.6 ± 3.49	10.1 ± 1.37
Day 22	NE	NE	15.8 ± 3.28	9.86 ± 2.32
AUC21d (µg·d/mL)				
Day 1	NE	NE	17,568 ± 2210	15,362 ± 1524
Day 22	NE	NE	23,609 ± 3451	19,199 ± 2190
AUCinf (µg·d/mL)				
Day 1	NE	NE	22,625 ± 5574	19,893 ± 3071
Day 22	NE	NE	38,869 ± 8559	24,778 ± 5377

NE, not examined.
[a] Control animals were treated with 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, and 0.0085 w/v% polysorbate 20.

17.5 MAAL-9001 のサル 6 週間間歇投与毒性試験（2/2）

	Attachment No. 4.2.3.7.7-6			
Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		10	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3
Noteworthy Findings				
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (Δ%) Day 42[b]	5.007 kg	2.957 kg	+5	−1
Food Consumption (Δ%) Day 43[b]	108.0 g	88.0 g	0	−2
Urinalysis	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-
Anti-Drug Antibody Analysis	-	-	-	1
Positive, Day 43	-	-	-	1

-, no noteworthy findings.
[a] Control animals were treated with 4.2 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 10 w/v% trehalose, and 0.0085 w/v% polysorbate 20.
[b] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

17.6 MAAA-1181a の光毒性試験

				Test Article: MAAA-1181a		
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Attachment Number**
Balb/c 3T3 cells	In vitro	-	0.195 to 25 µg/mL	6	Phototoxicity [PIF: Not determined, MPE: 0.432, IC_{50} (-UV): Not determined, IC_{50} (+UV): 2.356 µg/mL]	4.2.3.7.7-7
Rat/Iar:Long-Evans	Intravenous	Single	0, 1, 3	M:5	No phototoxicity for MAAA-1181a	4.2.3.7.7-8

PIF, photo irritation factor; MPE, mean photo effect.